

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

CONTRIBUTION A LA CHIMIOTHÉRAPIE DU PALUDISME. ESSAIS SUR LA MALARIA DES CANARIS

par E. FOURNEAU, M., et M^{me} TRÉFOUEL, G. STEFANOPOULO,
M^{lle} G. BENOIT, M^{me} Y. DE LESTRANGE, KENNETH I. MELVILLE (1).

(Laboratoire de Chimie thérapeutique de l'Institut Pasteur.)

Bien que nos recherches sur la chimiothérapie du paludisme ne nous aient pas encore conduits à la découverte d'un médicament spécifique (2), nous pensons qu'il n'est pas inutile de les publier, ne serait-ce que pour éviter à d'autres chercheurs un travail superflu. Du reste, en décrivant avec soin la technique que nous avons suivie, en donnant la formule des substances que nous avons expérimentées, nous espérons faciliter la tâche de ceux qui voudront contribuer à la recherche d'une médication vraiment efficace et peu dangereuse du paludisme.

La malaria humaine n'étant pas transmissible aux animaux, l'étude expérimentale du paludisme n'a été possible qu'à partir du moment où les travaux des frères Sargent (1903-1907), Wasielewski (1908), Kopenaris (1911), Marks (1914), etc., ont appris qu'on pouvait infecter expérimentalement les oiseaux

(1) Kenneth I. MELVILLE. National Research Council Fellow in Medicine.

(2) Nous avons dû les interrompre momentanément à cause d'une épidémie de pasteurellose dont nous n'avons pas pu nous rendre maîtres.

par le *Plasmodium relictum* qui leur communique une maladie dont l'évolution rappelle celle de la malaria humaine.

Dès 1903, les frères Sergent (1) inoculent des canaris par l'intermédiaire de culex infectés avec le *P. relictum* suivant la technique de Ronald Ross. Quatre ans plus tard, ils entreprennent les premières recherches de chimiothérapie en essayant l'action de la quinine sur l'*Hæmoproteus columbæ* du pigeon; ils ne constatent d'ailleurs aucune action visible. Enfin, au cours des années suivantes, ils étudient en détail l'action de la quinine et des divers alcaloïdes du quinquina sur les canaris infectés avec le *P. relictum*.

Nous donnerons plus loin un résumé de leurs essais (2) avec le chlorhydrate de quinine afin de pouvoir les comparer avec nos propres résultats.

En 1911, Kopenaris montre que la quinine, injectée aux oiseaux au moment où l'infection est bien déclarée, a une action très nette.

Marks (3) n'a observé, avec la quinine, aucune action chez l'oiseau; de même avec le bleu de méthylène, par voie sous-cutanée. Ces résultats nous incitent à croire qu'il possédait une race de Plasmodes plus virulents que ceux qui nous servent à l'heure actuelle. Les infections qu'il observe sont aussi plus sévères, amenant presque toujours la mort des canaris. Il note cependant l'action du Vert brillant et du Vert malachite.

Il y a trois ans, Røehl, directeur d'un des laboratoires de recherches de chimiothérapie de l'I. G., à Elberfeld, a publié un travail très important dont nous donnons les points essentiels (4). Les essais de chimiothérapie faits par Røehl, avec la collaboration des chimistes de l'I. G., ont non seulement précisé certains détails de technique, mais ont conduit à la découverte d'un remède très actif contre la malaria : la *Plasmochine*.

Les travaux antérieurs avaient surtout eu pour but d'étudier sur la malaria des oiseaux les médicaments qui s'étaient montrés actifs chez l'homme. Pour la première fois, dans

(1) Etude sur les hématozoaires d'oiseaux. Ces *Annales*, 16, 1907, p. 253.

(2) Ed. et Et. SERGENT. *Arch. Inst. Pasteur Afrique du Nord*, 1, 1921, p. 4.

(3) L. H. MARKS. *Berl. klin. Wöch.* (1914), 1886.

(4) W. RØEHL. *Beih. Arch. d. Schiff. and Trop. Hyg.*, 30, n° 3, 1926, p. 41.

l'histoire du paludisme, il a été démontré qu'un médicament actif chez l'oiseau pouvait l'être également chez l'homme, et en cela les travaux de Rœhl et de ses collaborateurs, comme ceux des frères Sergent, marquent une étape nouvelle dans la lutte contre la malaria.

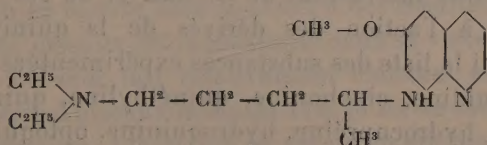
Rœhl a abandonné l'introduction par voie sous-cutanée des produits à expérimenter à cause de l'action irritante de certains d'entre eux sur les tissus si délicats des oiseaux ; il préfère la voie buccale et se sert d'une sonde pour faire pénétrer dans l'estomac de l'oiseau le médicament soluble dans l'eau. Il fait ainsi absorber 1 cent. cube de solution en prenant la précaution de l'introduire peu à peu ; il reconnaît qu'assez souvent l'oiseau rejette une partie du médicament mais que les résultats sont cependant assez nets pour apprécier l'activité des alcaloïdes.

L'action préventive a, pour Rœhl, plus d'importance que l'action curative. Il la pratique ainsi : les oiseaux reçoivent chaque jour une dose du produit à expérimenter, ceci dès le lendemain du jour de l'inoculation des plasmodes, et pendant six jours consécutifs ; il note le retard dans l'apparition des parasites chez ces oiseaux comparativement à ce qui se passe chez les oiseaux témoins.

Voici les résultats trouvés par Rœhl pour le chlorhydrate de quinine :

Dose minima active	0,0012
Dose toxique	0,003
Soit un coefficient de 1/4.	

De la même manière Rœhl a étudié plusieurs centaines de substances diverses (dérivés de la quinine, quinoléine, matières colorantes) pour aboutir à la Plasmochine de formule :



et dont le coefficient chimiothérapeutique *per os* est de :

$$\frac{0,000008}{0,00025} = 1/30.$$

L'action curative de la plasmochine a été également étudiée par Rœhl. Elle se manifeste quarante-huit heures après l'administration de ce produit en faisant disparaître d'abord les gamétocytes et les formes sexuées et en modifiant les petites formes des parasites qui deviennent spongieuses et vacuolaires. Les plasmodies disparaissent complètement après trois jours lorsque la dose est suffisante mais il ne s'agit jamais de guérison totale.

Rœhl émet ensuite des hypothèses sur le mode d'action de la plasmochine et semble enclin à conclure à une action directe sur le plasmode : en effet, si on traite un oiseau par une seule dose de plasmochine, six heures après l'avoir infecté avec des plasmodies l'apparition des parasites est retardée plus ou moins longtemps et quelquefois même ces parasites ne sont jamais visibles.

Depuis la publication de Rœhl, d'autres contributions importantes ont été apportées à la chimiothérapie de la malaria.

En 1928, R. Hegner, Ed. H. Shaw et R. D. Mauwell (1) publient un intéressant travail dans lequel ils concluent qu'étant donnée la situation intracellulaire du parasite il est nécessaire que le médicament puisse pénétrer à l'intérieur du globule ; aussi n'expérimentent-ils que les produits absorbés par les érythrocytes, ce qu'ils mesurent avec une technique très précise mise au point par eux. Seuls, à leur avis, les médicaments ne donnant pas d'ions au point neutre sont absorbés.

Au point de vue des résultats obtenus avec la quinine et la plasmochine sur le *P. cathemerium* des oiseaux, ils concluent, d'accord avec tous les auteurs, à l'impossibilité de stériliser définitivement l'animal avec ces médicaments bien qu'ils aient prolongé le traitement pendant des mois.

Un travail très intéressant de Giemsa et de ses élèves (2) a été consacré à l'action des dérivés de la quinine sur les oiseaux. Voici la liste des substances expérimentées : cupréine, quinine, quinidine, cinchonine, quinéthylène, quinpropylène, quinamylène, hydrocupréine, hydroquinine, optoquinine, dihydroquinine, quilépine, éther éthylique de la quiténine, amino-hydroquinine, bleu de méthylène, stovarsol, néosalvarsan.

(1) *Amer. J. of Hyg.*, vol. VIII, juillet 1928, p. 564.

(2) G. GIEMSA, W. WEISE et C. TROPP. *Arch. Schiffs. Trop. Hyg.*, 30, 1926, 334.

Voici les résultats :

La cupréine est inactive. L'hydrocupréine est beaucoup plus active. L'hydrogénation de la quinine n'a pour ainsi dire pas d'effet. La quiténine, qui a une fonction acide, n'agit pas ; son éther éthylique, au contraire, se rapproche de la quinine. L'acétylhydroquinine, qui est l'éther acétique de la fonction alcoolique, n'agit pas. Un corps très intéressant est l'aminohydroquinine qui est aussi actif et aussi peu toxique que l'hydroquinine.

Dans tous les cas où la fonction alcoolique a été supprimée ou remplacée (par Cl, CH_3CO^2 , H, etc.) l'action a disparu. C'est peut-être là le point le plus important du travail. La chaîne vinylique ne semble pas avoir beaucoup d'importance ; cependant l'hydrocupréine est plus active que la cupréine. De tout ce mémoire il résulte que la fonction alcoolique joue un rôle important.

RECHERCHES PERSONNELLES

Difficultés de l'étude expérimentale du paludisme.

1° INCONSTANCE DE LA MALADIE.

L'infection provoquée par le *P. relictum* chez le canari est très voisine du paludisme humain (à l'exception de la tierce bénigne) et plusieurs médicaments actifs chez l'homme (quinine, quiniostovarsol, plasmochine) le sont aussi, et nettement, chez l'oiseau.

Cependant, s'il s'agit de déceler la faible action d'une série nouvelle on se heurte bien souvent à des résultats douteux : la malaria des oiseaux est inconstante dans sa violence, sa durée, son issue. Le seul fait relativement constant est le suivant : chez une série d'oiseaux inoculés avec le même sang ou mélange de sangs parasités, l'infection se décèle au microscope sensiblement le même jour pour tous. Ceci permet de conclure à l'action préventive d'un médicament si les oiseaux traités présentent, dans l'apparition des parasites, un retard de plusieurs jours sur les témoins. Il est plus difficile de se faire une opinion relative

vement à l'action curative, étant donnée l'inconstance citée plus haut : une série d'infections provoquées par le même virus et se déclarant le même jour peuvent évoluer, toutes, de façons différentes :

a) Augmentation rapide du nombre des parasites atteignant en quatre à dix jours 30 à 80 parasites par champ de microscope; cette infection violente peut durer cinq à dix jours et amener la mort de l'animal (maigreur, décoloration des muqueuses, sang couleur chocolat) ou, au contraire, céder brusquement, laissant l'oiseau porteur de parasites apparaissant au microscope de temps à autre, et ceci pendant des mois : *infection latente*; cette réapparition des plasmodes n'a quelquefois pas de cause apparente (1).

b) Il peut y avoir, au contraire, *infection larvée* : le nombre des parasites oscille entre 1 pour 100 champs de microscope à 1 pour 2 champs (il n'atteint qu'exceptionnellement un par champ) pendant des temps très variables, quatre ou cinq jours ou des mois; cette catégorie d'oiseaux ne peut évidemment pas servir à l'expérimentation, mais la difficulté est de prévoir cette infection larvée : elle ne se manifeste pas, en général, chez les oiseaux dont la progression des parasites est sensiblement la suivante :

Premier jour de l'apparition des parasites . 1 pour 100 champs.

Deuxième jour de l'apparition des parasites. 1 pour 10 champs.

Troisième jour de l'apparition des parasites. 1 par champ.

A ce moment, il y a beaucoup de chances pour que l'infection continue à croître. On peut donc commencer le traitement. Si le nombre des parasites baisse en deux ou trois jours jusqu'à 0, on peut présumer l'action curative, à la condition que l'expérience, plusieurs fois répétée, donne les mêmes résultats.

Tandis que dans la trypanosomiase, par exemple, maladie mortelle, le rôle de défense de l'organisme est négligeable, dans la malaria, maladie chronique, ce rôle est au contraire extrêmement important. Il faut en tenir compte dans l'essai d'un médicament : son effet sur le plasmode peut être contrebalancé par la diminution de résistance de l'organisme.

(1) Elle est la règle quand l'oiseau est affaibli par une cause quelconque (changement de température, blessures, inoculation d'un corps de toxicité non négligeable).

2° ACTION DOUTEUSE DES CORPS MÊME ACTIFS.

Les médicaments actifs ne manifestent *pas d'action directe*; ils ne provoquent *pas de guérison*.

Leur action n'est pas proportionnelle aux doses, elle est à retardement, elle n'est pas définitive.

Jusqu'ici nous n'avons jamais observé de guérison. Après l'intervention, les oiseaux restent parfois à 0 plus ou moins longtemps; ils conservent des parasites qui peuvent, ou déclencher une crise violente mortelle, ou n'apparaître que de temps à autre (infection latente). Le mode d'action est discutable: il semble être l'indirect; il peut ne s'agir que d'un renforcement de la réaction de l'organisme. C'est pour cela, du reste, que Röehl préfère étudier l'action préventive.

COURBES TYPES. — On a étudié sur 200 oiseaux la *vitesse* avec laquelle apparaissent les parasites dans le sang après le jour de l'inoculation :

20 p. 100	ont pris le	5 ^e jour.	}	80 p. 100 ont pris entre le 3 ^e et le 8 ^e jour.
16	—	6 ^e —		
14	—	8 ^e —		
10	—	4 ^e —		
10	—	3 ^e —		
10	—	7 ^e —	}	20 p. 100 après le 8 ^e jour.
7	—	9 ^e —		
5	—	10 ^e —		
3	—	2 ^e —		
2	—	12 ^e —		
1	—	11 ^e —	}	
1	—	14 ^e —		

2 oiseaux n'ont jamais présenté de parasites (vieux porteurs, non réinoculables, infection trop faible pour être décelée au microscope?) et 12 n'ont eu que des infections larvées n'atteignant jamais un parasite par champ. Soit :

Oiseaux n'ayant pas présenté de parasites.	1 p. 100
Infections larvées.	6 p. 100

47 de ces oiseaux n'ont reçu aucun médicament et ont été suivis comme témoins ;

Ont conservé une infection latente.	35
Sont morts de leur infection	12

6 en pleine crise (une vingtaine de jours après l'infection avec un nombre de parasites atteignant 80 par champ).

6 plus lentement, ne redescendant jamais à 0, mais ne présentant qu'un petit nombre de plasmodes par champ. Soit :

Infections restant latentes.	76 p. 100
Cas mortels	24 p. 100

L'étude de ces courbes a permis de déterminer :

- 1° Le moment le plus favorable au traitement : 4 parasite par champ après la progression indiquée plus haut ;
- 2° Les conditions d'infection provoquant les crises les plus régulières ; elles sont les suivantes :

MODES D'INFECTION. — La méthode est celle décrite par les frères Sergent dans l'article cité : injection, dans le péritoine d'un oiseau sain, d'un mélange d'eau citratée et de sang parasité. Voici les conditions qui nous ont donné les infections prenant presque toujours le cinquième jour (1).

Exemple : pour infecter 6 oiseaux sains, mettre dans le fond d'un verre XVIII gouttes d'eau citratée ; prendre 6 oiseaux infectés, autant que possible en période croissante de la crise, et présentant au moins un parasite par champ ; il est bon qu'au moins un des oiseaux ait plus de 15-20 plasmodes par champ ; prélever chez chacun d'eux III gouttes de sang à l'aide d'une seringue préalablement rincée à l'eau citratée. Mêler intimement le sang à l'eau citratée en opérant le plus vite possible pour éviter l'action nocive de l'eau citratée sur les plasmodes. Mettre la totalité du mélange infectant dans une seringue munie d'une fine aiguille ; injecter à chaque oiseau le sixième de ce mélange dans le péritoine mis à nu, débarrassé des plumes en les collant, par simple mouillage, de part et d'autre de l'endroit de la piqure. On doit éviter de piquer à droite pour ne pas toucher le foie ; cette précaution mise à part il ne

(1) Nous avons vu l'intérêt d'infecter le plus possible les oiseaux avec le même sang virulent ; d'autre part, on ne peut prendre plus de II à III gouttes de sang à un oiseau ; il faut donc opérer avec des mélanges de sang. Marks sacrifie un oiseau et se sert de la totalité de son sang (VIII gouttes). Avec notre procédé, chaque oiseau peut donner, sans aucun dommage pour sa santé, II à III gouttes de sang chaque jour pendant toute sa crise, c'est-à-dire pendant cinq à vingt jours.

nous a pas semblé que le *lieu* d'injection ait une importance quelconque pas plus que la *quantité* de sang injectée; c'est la *qualité* du sang infectant seule qui importe. Il est indispensable que le sang soit en quantité au moins égale et de préférence supérieure à celle de l'eau citratée. Cependant, si l'on veut obtenir une infection rapide dont les plasmodes soient visibles au microscope dès le deuxième jour, on peut faire l'inoculation dans la veine de l'aile, à l'aide d'une très fine pipette en verre effilée et recourbée à angle droit; en soufflant légèrement, on suit le chemin du liquide injecté dans la veine, seule preuve qu'on est bien dans la veine. Il ne faut pas introduire plus de I à II gouttes de liquide; cette opération est délicate.

Recherche de l'action d'un corps.

VOIE D'INTRODUCTION.

VOIE SOUS-CUTANÉE. — Technique de Edm. et Ét. Sargent; injection dans l'arête dorsale.

VOIE BUCCALE. — Rœhl emploie la sonde que Marks avait tout d'abord utilisée, puis abandonnée. Ce procédé présente à notre avis des inconvénients. La manipulation est longue puisque, d'après l'expérimentateur lui-même, il ne faut introduire que peu à peu le liquide; pour que l'exactitude soit suffisante, la quantité de liquide doit être assez grande, et l'animal en rejette souvent une partie par vomissements; on ne peut expérimenter que des médicaments solubles; enfin l'oiseau souffre. Le moyen que nous employons nous semble plus simple et moins brutal: un aide tient l'oiseau couché sur le dos dans le creux de la main gauche, immobilisant la tête entre le pouce et l'index. De la main droite, à l'aide d'une petite pince à dissection, le bec est maintenu ouvert; l'opérateur dépose au moyen d'un agitateur très fin, au fond du gosier, de petites boulettes faites d'un peu de biscuit trituré avec de l'eau et le produit à expérimenter; en retirant aussitôt la pince, l'oiseau avale facilement. On peut aider la déglutition en lui présentant une goutte

d'eau au bout d'un agitateur. Nous avons ainsi fait avaler jusqu'à 0 gr. 2 de produit sans aucune perte en moins de trois minutes, et sans observer de vomissement.

ACTION CURATIVE.

La dose toxique étant déterminée, nous donnons à l'oiseau, représentant un parasite par champ, la moitié au maximum de cette dose sans jamais la dépasser; elle est répétée trois jours de suite.

Si le médicament n'a pas d'action, la crise présente en général un caractère de gravité inusité chez le témoin (toxicité du produit diminuant la résistance de l'oiseau).

Même si le médicament agit, les parasites continuent, en général, à augmenter après le premier jour, mais ils diminuent les deuxième et troisième jours; ceci est un fait constant.

ACTION PRÉVENTIVE.

Ce terme est inexact; les corps étudiés s'éliminant pour la plupart très rapidement, ils ne pourraient prévenir une infection même s'ils sont donnés quelques heures avant l'inoculation des plasmodes.

Il s'agit plutôt d'un *traitement précoce*, le médicament étant administré dès le lendemain de l'inoculation quand les plasmodes sont encore invisibles au microscope. La même dose (la moitié de la dose mortelle pour les corps à toxicité rapide, 1/6 pour les autres) est donnée six jours de suite.

Il y a action préventive si l'infection est retardée d'au moins cinq ou six jours sur celle des témoins (méthode de Röhl).

Si le médicament est sans action, les oiseaux prennent en général avant les témoins et la crise est violente, souvent mortelle.

EXAMEN DES LANES COLORÉES.

Nos examens microscopiques de chaque jour sont toujours pratiqués à l'état frais, à l'immersion. Ce moyen ne permet cependant pas d'établir la proportion des divers éléments les uns par rapport aux autres. Nous demandant si une loi ne présidait pas à cette répartition, nous avons étudié un certain

nombre d'infections, normales, larvées, ou arrêtées par un médicament actif, en faisant des lames colorées chaque jour depuis le début de l'infection jusqu'à la disparition des parasites et en établissant pour chacune des lames une formule parasitaire, avec la proportion respective des formes jeunes, des schizontes, des mérozoïtes et des gamètes comptés sur un total de cent parasites, chaque jour, et pour chaque oiseau. La moindre régularité dans l'augmentation ou la diminution d'un élément par rapport aux autres à des périodes données des crises aurait pu nous être d'un grand secours pour les cas douteux où nous hésitons à attribuer la décroissance d'une infection à l'action d'un corps. Malheureusement, nous n'avons pu tirer aucune indication de cette étude, deux formules parasitaires de deux infections identiques étant rarement superposables. Les deux seuls faits relativement constants sont : 1° l'analogie de la courbe des schizontes avec celle du nombre total des parasites; 2° la diminution du nombre des gamètes au moment du maximum de la crise et, au contraire, leur augmentation en fin de crise; mais, comme ces mêmes oscillations se retrouvent dans les courbes d'oiseaux traités par la quinine, par exemple, l'indication que nous recherchions est nulle.

Étude des médicaments actifs :

plasmochine, quinine, quiniostovarsol, bleu de méthylène.

Il nous a semblé intéressant d'étudier comparativement l'action de la quinine, du quiniostovarsol et de la plasmochine ainsi que celle du bleu de méthylène, tous les auteurs n'étant pas d'accord sur la façon d'agir de ce dernier.

PLASMOCHINE (1).

Rœhl ayant étudié d'une manière approfondie la Plasmochine *per os*, nous nous sommes contentés de l'essayer sur l'oiseau par *voie sous-cutanée*, curativement et préventivement.

(1) Nous devons la plasmochine qui a servi à nos expériences à l'amabilité des directeurs des Farben Fabriken Bayer auxquels nous adressons nos remerciements.

a) *Curativement (sous-cutanée)* (dose répétée trois jours de suite).

0,000002	Action nulle. L'oiseau meurt de son infection en 15 jours	<i>Mort.</i>
0,000004	Baisse après la seconde injection. N'arrive à 0 qu'après 8 jours. 2 jours à 0, puis crise normale	<i>Mort.</i>
0,00002	Baisse le lendemain de la deuxième injection. 3 jours à 0, puis crise (24 jours) oscillant entre 1/50 et 5 parasites	<i>Mort.</i>
0,00006 (trois oiseaux).	1° Baisse le lendemain de la deuxième injection. 8 jours à 0. Crise (17 jours) atteignant 80 parasites	<i>Mort.</i>
	2° Baisse le lendemain de la deuxième injection. 10 jours à 0. Réapparition intermittente des parasites	<i>Inf. latente.</i>
	3° Meurt en cours d'expérience.	
0,00008 (deux oiseaux).	1° Meurt en cours d'expérience.	
	2° Baisse le lendemain de la deuxième injection. 5 jours à 0. Crise (46 jours) oscillant entre 1/50 et 20 parasites	<i>Mort.</i>
0,00012 (3 jours).	1° Baisse après la deuxième injection. 9 jours à 0. Réapparition intermittente des parasites	<i>Inf. latente.</i>
0,00012 (1 jour).	2° Baisse après 48 heures. 4 jours à 0. Réapparition intermittente des parasites	<i>Inf. latente.</i>

Excluant les deux oiseaux morts (accidentellement) au cours du traitement, nous constatons 6 morts sur 9 oiseaux, soit 66 p. 100 de cas mortels, moyenne très supérieure à ce que nous avons vu chez les témoins (24 p. 100).

COEFFICIENT CHIMIOTHÉRAPEUTIQUE. — On ne peut parler de coefficient chimiothérapeutique

$$\frac{C}{T} \left(\frac{\text{Dose curative}}{\text{Dose toxique}} \right)$$

puisqu'il n'y a jamais de guérison. Si l'on prend pour C la valeur de la dose où une légère action se manifeste, on arrive au coefficient

$$\frac{0,000004}{0,00025} = \frac{1}{60}$$

supérieur à celui trouvé par Röhl *per os*.

$$\frac{0,00002}{0,00066} = \frac{1}{30}$$

b) *Préventivement (sous-cutané) (6 injections).*

0,000002	{	2 jours de retard sur le témoin 1.	
		3 jours de retard sur le témoin 2.	
		Crise de 18 jours atteignant 30 parasites. . .	<i>Mort.</i>
0,000004	{	9 jours de retard sur témoin 1.	
		8 jours de retard sur les témoins 2 et 3.	
		Forte crise.	<i>Mort.</i>
0,000308 (trois oiseaux).	{	1 ^o Meurt accident. après la quatrième injection.	
		2 ^o 13 jours de retard sur l'unique témoin.	
		Crise atteignant 6 parasites puis	<i>Inf. latente.</i>
		3 ^o 16 jours de retard sur l'unique témoin.	
		Crise atteignant 6 parasites puis	<i>Inf. latente.</i>
0,00002 (cinq oiseaux).	{	1 ^o 5 jours de retard sur témoin 1.	
		13 jours de retard sur témoin 2.	
		Crise de 10 jours atteignant 25 parasites . .	<i>Mort.</i>
		2 ^o 8 jours de retard sur témoin 1.	
		8 jours de retard sur témoin 2.	
		Meurt accidentellement ensuite.	
		3 ^o 1 jour de retard sur témoin 1.	
		6 jours de retard sur témoin 2.	
		Très petite infection	<i>Inf. latente.</i>
0,00006	{	4 ^o Retard négatif : prend 3 jours avant témoin.	
		Meurt accidentellement par la suite.	
		5 ^o 17 jours de retard sur témoin 1.	
		20 jours de retard sur témoin 2.	
		Petite infection	<i>Inf. latente.</i>
0,00008	{	17 jours de retard sur témoin 1.	
		17 jours de retard sur témoin 2.	
		Crise moyenne	<i>Inf. latente.</i>
0,00012	{	10 jours de retard sur témoin 1.	
		10 jours de retard sur témoin 2.	
		Ceci est le retard à la crise; en réalité, apparition fugitive de parasites 3 jours après les témoins	<i>Inf. latente.</i>
		N'a pas encore pris 25 jours après les témoins.	
		Mort accidentelle.	

Sur 13 oiseaux traités : 3 morts accidentelles, 6 infections latentes (dont un échec partiel), 1 échec complet, 3 morts d'infection. Les doses agissantes sont les mêmes curativement et préventivement.

QUININE ET QUINIOSTOVARSOL.

Afin de comparer avec les nôtres (voir ci-après) les expériences faites par Ed. et Et. SÉRGENT sur le chlorhydrate de quinine (voie sous-cutanée), nous avons résumé brièvement ici les résultats obtenus à Alger (1).

(1) Ed. et Et. SÉRGENT. *Arch. Inst. Past. Afr. Nord*, 4, 1921, p. 132.

Dose mortelle variable : 0,002, mort 2 sur 4.

Action curative, dose forte fractionnée : dans 11 cas sur 12 la quinine a fait disparaître les parasites du sang périphérique en moins de quarante-huit heures (0,002-4).

Dose forte unique : avec une dose forte unique inoculée en une seule fois dans 1 cas seulement sur 11 la quinine a fait disparaître les parasites du sang périphérique en moins de quarante-huit heures (mais 60 p. 100 meurent de toxicité).

Action préventive. Les injections sont poursuivies de dix à soixante jours à partir du lendemain de l'inoculation.

0,0005, cette dose répétée quotidiennement chez 3 canaris (treize à trente jours) a empêché l'infection d'être très intense, les parasites au lieu d'être très nombreux n'ont jamais été que très rares.

0,007, cette dose répétée pendant dix jours a tenu en échec l'infection tant qu'elle a été administrée; dès la cessation de la quininisation préventive l'infection s'est développée et a montré la même virulence que chez les témoins.

Cette dose répétée tous les deux jours a été impuissante dans 1 cas sur 3 à tenir complètement en échec les plasmodium; ceux-ci ont pullulé chez un sujet quininisé depuis deux mois comme chez les témoins.

Lorsqu'on a suspendu la quininisation au cours du premier et du deuxième mois, soit après la première période de traitement quotidien, soit pendant le traitement d'un jour sur deux, l'infection s'est développée dans 3 cas sur 4 avec la même virulence que chez les témoins.

La méthode de quininisation préventive par de fortes doses tous les septième et huitième jours s'est montrée inefficace.

0,0007, six jours seulement. A pour effet de retarder l'infection de quelques jours mais n'atténue en rien la virulence ni la durée de l'infection.

0,0025, fractionnée le jour même de l'inoculation a retardé de deux à sept jours l'invasion parasitaire, mais n'a aucune influence sur l'intensité de l'infection consécutive.

La quinine prise plusieurs jours *avant* que l'on soit exposé à l'infection malarique ne vaccine pas.

Voici maintenant nos propres résultats :

Le quiniostovarsol contenant sensiblement 60 p. 100 de quinine, nous avons essayé parallèlement ces deux corps, curativement et préventivement, *per os* et par voie sous-cutanée, le quiniostovarsol aux doses doubles de celles de la quinine.

Per os : a) *curativement*.

Quinine.

0,00025	...	Pas d'action.
0,0005	...	Baisse du nombre des plasmodies après la deuxième dose. 1 jour à 0. Crise de 11 jours ne dépassant pas 1 parasite pour 10 champs.
0,001	...	Baisse 24 heures après la troisième dose. 1 jour à 0. Crise ne dépassant pas 1 parasite pour 4 champs.
0,002	...	Baisse 24 heures après la troisième dose. Crise retardée de 10 jours (sans tomber à 0), puis infection violente atteignant 25 parasites en 4 jours.
0,003	...	Baisse après la deuxième dose. Très petite infection.
0,005	...	Baisse après la troisième dose. 15 jours pour redescendre à 0. 25 jours plus tard, crise.
0,006	...	Baisse après la deuxième dose. Jamais à 0. Crise retardée de 8 jours et durant 20 jours.
0,008	...	Baisse 24 heures après la troisième dose. Jamais à 0. Meurt en 20 jours avec 10 parasites par champ.
0,010	...	Baisse après la troisième dose. Meurt 3 jours après sans être redescendu à 0.

Avec la quinine, 9 oiseaux traités : 1 avec dose trop faible, action, 0; 3 infections restant latentes; 5 morts d'infection. Avec le quiniostovarsol, 8 oiseaux traités : 1 avec dose trop faible, action, 0; 5 infections latentes; 2 morts d'infection. Le quiniostovarsol se montre ici supérieur à la quinine.

La quinine, comme nous l'avons vu pour la plasmochine, par injection sous-cutanée, retarde la crise, mais celle-ci a une issue fatale chez 8 oiseaux sur 9 traités (57 p. 100). La proportion de ces cas mortels semble augmenter avec les doses. De plus, à mesure que les doses croissent, le retard de la crise diminue : à 0,006, 0,008 et 0,010 les oiseaux ne sont jamais redescendus à 0.

Ceci peut être expliqué par le fait (noté chez l'homme) que la quinine circulant dans le plasma :

1° Ne dépasse jamais une certaine quantité;
2° Que cette quantité *diminue* à partir d'une dose optimale, avec l'augmentation des doses administrées.

Le quiniostovarsol, au contraire, ne donne que 2 cas mortels sur 8 oiseaux.

(L'action fortifiante du stovarsol combattrait-elle l'action affaiblissante de la quinine?)

(1) E. MARCHOUX, Paludisme, 1926.

Quiniostovarsol.

0,0005	...	Pas d'action.
0,0001	...	Baisse après la troisième dose. 11 jours pour redescendre à 0.
0,002	...	Baisse après la deuxième dose. 5 jours à 0. Petite crise (12 jours) ne dépassant pas 1 par champ.
0,004	...	Baisse après la deuxième dose. Crise retardée de 6 jours sans redescendre à 0.
0,010	...	Baisse après la première dose. 6 jours à 0. Très petite infection (3 jours).
0,012	...	Baisse après la deuxième injection. Crise retardée de 10 jours sans retomber à 0. Le nombre des parasites atteint 20 par champ.
0,016	...	Baisse après la deuxième dose. 4 jours pour retomber à 0.
0,020	...	1° Baisse après la première dose, mais meurt accidentellement. 2° Baisse très légère après la troisième dose. Ne retombe jamais à 0. Meurt 5 jours après.

Mort.

Mort.

Mort.

Mort.

Mort.

Mort.

Mort.

Mort.

Mort.

Mort.

Mort.

Mort.

QUININE ET QUINIOSTOVARSOL (suite).

Per os : b) préventivement.

Quinine.

0,00025	{ 2 jours de retard sur témoin 1. 2 jours de retard sur témoin 2. Petite crise de 10 jours	0,0005	{ 2 jours de retard sur témoin 1. 1 jour de retard sur témoins 2 et 3. Prend 2 jours avant témoin 4. Petite crise. 1 ^{re} 5 jours de retard (minimum) sur témoin 1. Meurt accidentellement.	<i>Inf. latente.</i>
0,0005	{ 1 jour de retard sur témoin 1. 1 jour de retard sur témoin 2. Crise de 18 jours	0,001 (deux oiseaux).	{ 2 ^e Prend 1 jour avant témoin 1. Prend 2 jours avant témoin 2. Forte crise	<i>Mort.</i>
0,001	{ 11 jours de retard sur témoin 1. 12 jours de retard sur témoin 2. Longue crise de 53 jours ne dépassant pas 3 parasites par champ	0,002	{ 8 jours de retard sur témoin 1. 9 jours de retard sur témoin 2. Très petite infection 3 ^e essai : 7 jours de retard sur 2 témoins mais l'oiseau meurt accidentellement.)	<i>Inf. latente.</i>
0,002	{ 12 jours de retard sur témoin 1. 12 jours de retard sur témoin 2. 15 jours de retard sur témoin 3. Très petite crise			
0,0025	{ Les parasites apparaissent en même temps que ceux des trois témoins, mais le lendemain ils ont disparu et ne réapparaissent que 13 jours plus tard. Petite crise.			
0,004	{ 8 jours de retard sur témoin 1. 8 jours de retard sur témoin 2. 9 jours de retard sur témoin 3. Petite crise			
	{ 12 jours de retard sur témoin 1. 13 jours de retard sur témoin 2. Petite crise (10 jours) maximum 5 parasites par champ			
0,008	{ 7 jours de retard sur l'unique témoin. Il n'y a apparition de parasites que pendant 2 jours. Pas de crise			
	{ N'a pas encore pris après 28 jours.			
0,010	{ 6 jours de retard (au minimum) sur témoin 1. Meurt accidentellement.			

Quiniostovarsol.

0,0005	{ 2 jours de retard sur témoin 1. 1 jour de retard sur témoins 2 et 3. Prend 2 jours avant témoin 4. Petite crise. 1 ^{re} 5 jours de retard (minimum) sur témoin 1. Meurt accidentellement.	0,005	{ 43 jours de retard sur témoin 1. 43 jours de retard sur témoin 2. 44 jours de retard sur témoin 3. Crise (14 jours) atteignant 9 parasites par champ	<i>Inf. latente.</i>
0,010	{ 18 jours de retard sur témoin 1. 19 jours de retard sur témoin 2. Très petite crise	0,010	{ 18 jours de retard sur l'unique témoin. Violente crise (15 jours) atteignant 35 parasites par champ	<i>Inf. latente.</i>
0,012	{ 6 jours de retard sur l'unique témoin. Violente crise (15 jours) atteignant 35 parasites par champ	0,016	{ Retard supérieur à 7 jours mais mort accident.	<i>Mort.</i>
0,020	{ Retard de 2 jours sur témoin 1. Forte crise.			

Avec la quinine, sur 10 oiseaux traités : 7 infections restant latentes (dont 1 échec partiel) ; 1 mort d'infection ; 1 ne prend jamais l'infection ; 1 meurt accidentellement.

Avec le quiniostovarsol, sur 10 oiseaux traités : 4 infections restant latentes ; 3 morts d'infection ; 3 morts accidentellement.

Les résultats obtenus avec la quinine et le quiniostovarsol sont équivalents.

Le coefficient est pour la quinine au moins de $\frac{0,010}{0,001} = 10$ supérieur à celui donné par Roehl : $\frac{0,0012}{0,005} = 4$.

QUININE ET QUINIOSTOVARSOL (suite).

Sous-cutanée : b) préventivement.

Quinine.

0,0002	{ 4 jours de retard sur témoin 1. 2 jours de retard sur témoin 2.	<i>Inf. latente.</i>	0,0004	2 jours de retard sur témoin 1. Crise de 14 jours	<i>Mort.</i>
0,0004	{ 5 jours de retard sur témoin 1. 3 jours de retard sur témoin 2. Meurt accidentellement 4 jours après.		0,0008	{ 2 jours de retard sur témoin 1. Petite crise (25 jours) ne dépassant pas 1 parasite par champ	<i>Inf. latente.</i>
	{ 16 7 jours de retard sur témoin 1. 8 jours de retard sur témoin 2. Crise de 12 jours sans dépasser 3 parasites par champ	<i>Inf. latente.</i>		{ 1° Prend même jour que le témoin 1. Prend 1 jour avant témoin 2. Reste 20 jours avec des parasites sur, avec 1 parasite par champ	<i>Inf. latente.</i>
0,0005 (trois oiseaux).	{ 2° 6 jours de retard sur témoin 1. 8 jours de retard sur témoin 2. Mort accident. 3° Prend même jour que témoin 1. 8 jours de retard sur témoin 2. Prend avant témoin 3. Crise de 14 jours atteignant 50 parasites par champ.	<i>Inf. latente.</i>	0,001 (trois oiseaux).	{ 2° 8 jours de retard sur témoin 1. 10 jours de retard sur témoin 2. Très petite crise (12 jours)	<i>Inf. latente.</i>
	{ 1° 7 jours de retard sur témoin 1. 8 jours de retard sur témoin 2. Crise de 10 jours ne dépassant pas 4 parasites par champ.	<i>Mort.</i>		{ 3° Prend 1 jour avant le témoin 1. Rares plasmodes pendant les jours suivants. Petite crise retardée de 8 jours, durant 10 jours sans dépasser 3 parasites par champ.	<i>Inf. latente.</i>

Inf. latente.

9° 9 jours de retard sur témoin 1.
10 jours de retard sur témoin 2.
Avec cependant apparition d'un plasmode le même jour que le premier témoin. Meurt accidentellement.
3° Meurt en cours d'expérience.
4° 9 jours de retard sur témoin 1.
12 jours de retard sur témoin 2.
Petite infection (17 jours) ne dépassant pas 1 parasite par champ.

0,001
(six oiseaux).

5° Meurt en cours d'expérience.
6° 5 jours de retard sur témoin 1.
8 jours de retard sur témoin 2.
Avec cependant apparition de plasmodes le même jour que le premier témoin.
Crise ne dépassant pas 1 parasite par champ.

Inf. latente.

0,0015

13 jours de retard sur témoin 1 mais meurt accidentellement.

Avec la quinine, sur 12 oiseaux traités : 6 mort accidentellement ; 5 infections restant latentes ; 1 mort d'infection. (A noter : 1 échec partiel ; 2 oiseaux présentent quelques plasmodes le même jour que les témoins.) Avec le quiniostovarsol, sur 6 oiseaux traités : 5 infections restant latentes ; 1 mort d'infection. (A noter 1 échec complet et 1 échec partiel ; 1 oiseau ne présentant que 2 jours de retard sur les témoins.) Les résultats obtenus avec la quinine sont un peu supérieurs à ceux du quiniostovarsol. L'action préventive par la quinine et le quiniostovarsol, par la voie sous-cutanée, est moins nette que par la plasmachine. Cependant ces deux premiers produits ne déterminent pas le pourcentage énorme de crises mortelles notées avec la plasmachine.

(1) Nous avons essayé le Quiniostovarsol buileux aux doses uniques de : 0,002 sur 4 oiseaux, 1 meurt accidentellement avec un minimum de 6 jours de retard ; le 2° a un retard de 20 jours ; le 3° ne prend jamais l'infection ; le 4° n'a aucun retard ; 0,004, 7 à 10 jours de retard ; 0,008, 3 jours de retard.

Bleu de méthylène.

Toxicités	0,001.	3 jours de suite. Mort.
	0,002.	Mort.
	0,001.	Normal.

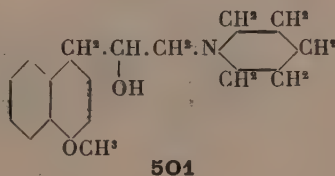
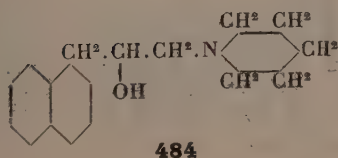
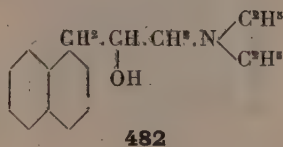
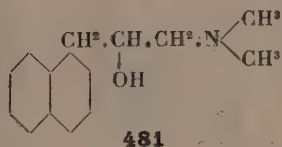
Injection sous-cutanée : a) curativement.

0,00025 (7 jours) total : 0,00175.	{	Le nombre des parasites baisse après la deuxième injection, remonte légèrement puis continue à baisser pendant tout le traitement pour remonter légèrement ensuite	<i>Inf. larvée.</i>
0,0005 (4 jours) total : 0,002.		Reste stationnaire pendant les trois premiers jours du traitement, puis crise normale. . . .	<i>Mort.</i>
0,0005 (1 jour) puis 0,001 (2 jours) total : 0,0025.	{	Baisse après la deuxième injection; plus accentuée après la troisième, mais crise normale dès la cessation du traitement.	<i>Mort.</i>
0,001 (3 jours) total : 0,053.		Baisse après la deuxième injection, meurt de toxicité après la troisième.	

*Injection sous-cutanée : b) préventivement (voir p. 522).**
* *

Voici maintenant la liste des corps que nous avons préparés et essayés sans résultats positifs; quelques-uns cependant ont manifesté chez l'oiseau une action irrégulière et peuvent être pris comme point de départ pour des recherches.

Amino-Alcools.



BLEU DE MÉTHYLÈNE (échantillons A et B).

Sous-cutanée : b) *préventivement*.

Echantillon A.

1° Retard de 3 jours sur témoins 1 et 2. Très petite crise ne dépassant pas 1 parasite par champ.	0,00025 (8 jours) total : 0,002.	<i>Inf. larvée.</i>
2° Retard de 3 jours sur témoins 1 et 2. Très forte crise mortelle.		<i>Mort.</i>
1° Retard de 2 jours sur témoins 1 et 2. Meurt accidentellement le 4 ^e jour de la crise.	0,0005 (4 jours) total : 0,002.	
2° Retard de 2 jours sur témoins 1 et 2. Crise normale.		<i>Mort.</i>
3° Retard de 10 jours sur témoins 1 et 2. Crise normale.	0,001 (2 jours) puis 0,0005 (3 jours) total : 0,0035.	<i>Mort.</i>
Retard de 2 jours sur témoin 1. Crise normale.		<i>Mort.</i>

Échantillon A + Stovarsol (simultanément).

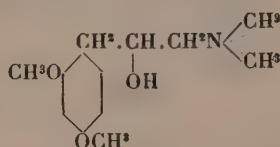
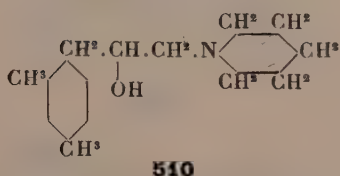
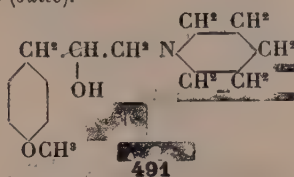
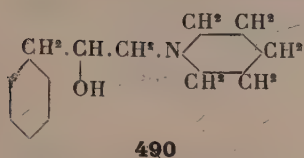
Retard de 6 jours sur témoins 1 et 2. Longue crise mortelle.	0,00025. (6 jours) total : 0,0045. Stovarsol, 0,005 (6 jours) total : 0,050	<i>Mort.</i>
Retard de 6 jours (minimum) sur témoin 1.	0,00025 (8 jours) total : 0,002. Stovarsol, 0,005 (8 jours) total : 0,040.	
Retard de 5 jours sur témoin 2. Meurt accidentellement à 0.		

L'action préventive est beaucoup plus nette que l'action curative. Sur 12 oiseaux traités préventivement avec deux échantillons de bleu de méthylène différents, nous n'avons noté qu'un échec chez un oiseau infecté accidentellement de trypanosomiasis. Pour tous les autres le retard apporté à l'apparition des plasmodes oscille entre 2 et 10 jours à partir de la dose de 0,00025 répétée chaque jour; ils font tous ensuite une crise violente mortelle à l'exception de 2 oiseaux traités simultanément par du stovarsol et qui conservent une infection latente.

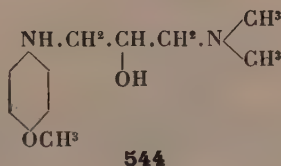
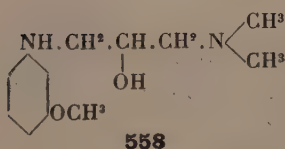
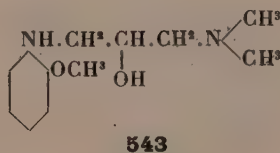
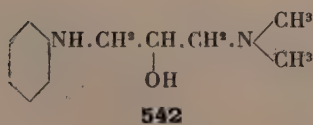
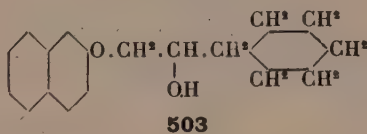
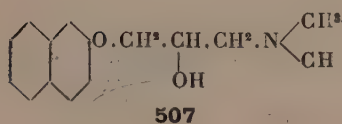
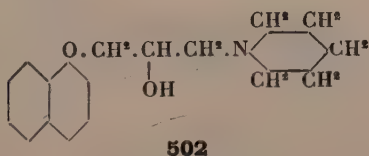
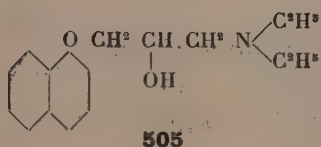
Echantillon B (médical).

1° Prend 5 jours avant témoin 1 et 1 jour avant témoin 2 (trypanosomes) meurt accidentellement au début de la crise.		
2° Retard minimum sur témoins 1 et 2.	0,00025 (8 jours) total : 0,002.	
Retard minimum sur témoin 2 : 3 jours.		
Meurt accidentellement avant d'avoir pris.		
3° Retard de 5 jours sur témoin 1. Retard de 4 jours sur témoins 2 et 3. Retard d'un jour sur témoin 4.		<i>Mort.</i>
Fortes crises très rapides.		<i>Mort.</i>
1° Retard minimum de 1 jour. Meurt accidentellement.		
2° Retard de 4 jours sur témoins 1 et 2. Forte crise.	0,0005 (4 jours) total : 0,002.	<i>Mort.</i>
3° Retard de 5 jours sur témoins 1 et 2 (pendant courte apparition de parasites le même jour que les témoins.) Forte crise.		<i>Mort.</i>
Prend le même jour que le témoin.	0,00025 (8 jours) total : 0,001.	
Echantillon B + Stovarsol (simultanément).		
1° Retard de 6 jours sur témoin 1. Retard de 5 jours sur témoin 2. Petite crise.	0,00025 (8 jours) total : 0,002 Stovarsol, 0,005 (8 jours) total : 0,040.	<i>Inf. latente.</i>
2° Prend même jour que témoins 1 et 2. Petite crise.		<i>Inf. latente.</i>

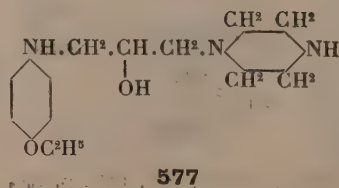
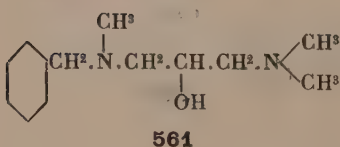
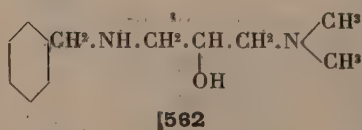
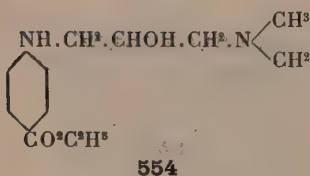
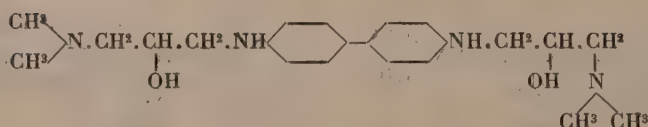
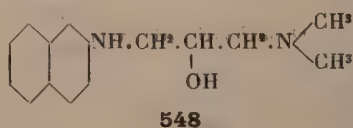
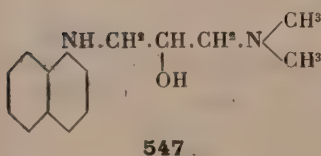
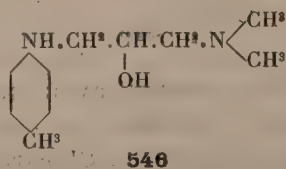
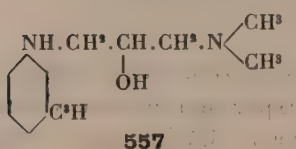
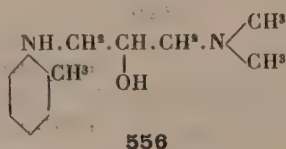
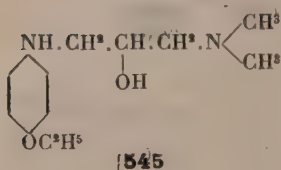
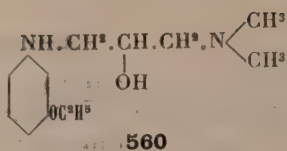
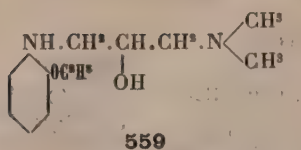
Amino-Alcools (suite).

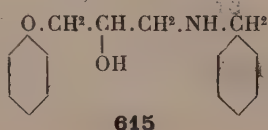
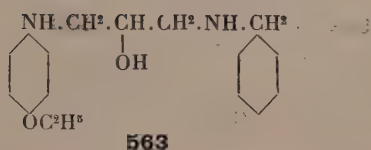
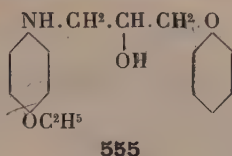
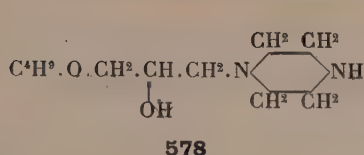


Le 482 semblait avoir une légère action sur l'oiseau; les produits ci-dessus ont alors été expérimentés sur l'homme dans le service du D^r Marchoux par le D^r Legendre (1) sans donner de résultats nettement positifs.



(1) *Bull. Pathol. Ex.*, 1927, p. 456.





A noter : les n^{os} 542, 546, 555 ont manifesté une certaine action sur l'oiseau, en particulier :

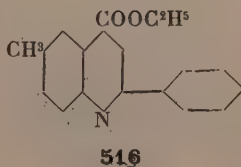
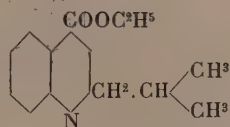
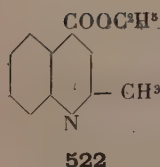
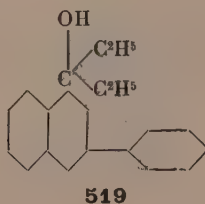
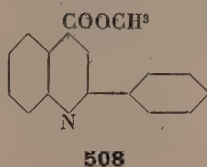
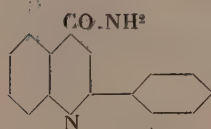
555

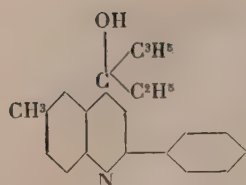
(Insoluble. Essais *per os*.)

Toxicité :	0,080	Pas de troubles.
Action	{ 0,007	Baisse dès la première dose.
	{ 0,020	Baisse après la troisième dose. 5 jours à 0.
Prévention	{ 0,007	Pas de retard.
	{ 0,0075	Retard de 4 jours.
	{ 0,010	Retard de 7 jours.
	{ 0,015	Prend 9 jours avant témoin (mais ce témoin présente une infection anormale).

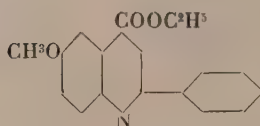
Ces résultats justifiaient l'essai sur l'homme : il a cependant été négatif.

[Série de l'atophan.

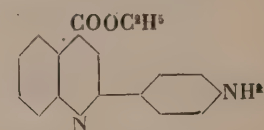




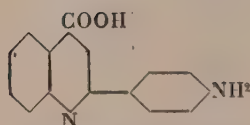
517



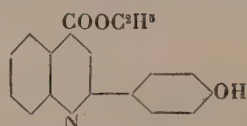
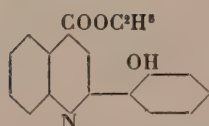
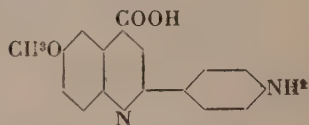
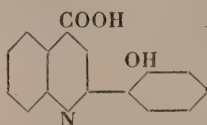
518



520

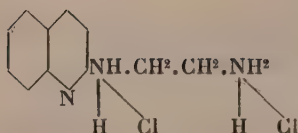


Acide du 520.

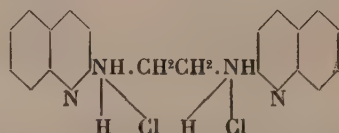


521

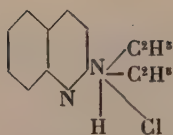
Série du carbostyryle.



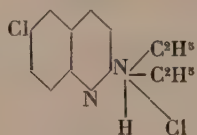
564



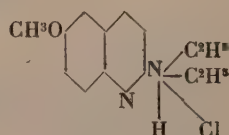
565



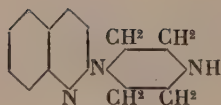
566



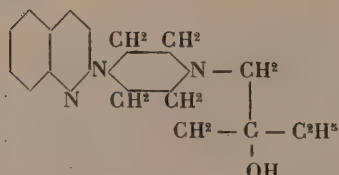
567



568

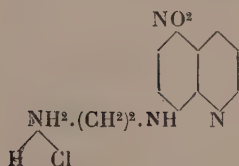


583

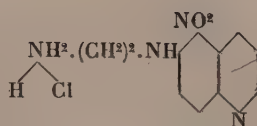


584

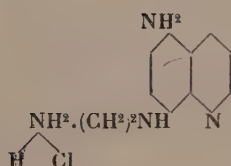
Série dérivant des nitro-Cl-quinoléines.



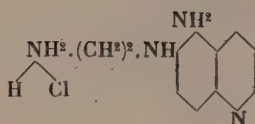
570



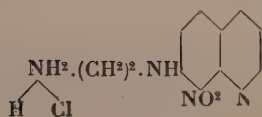
571



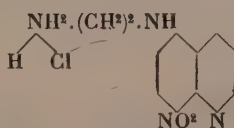
576



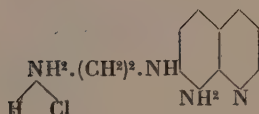
574



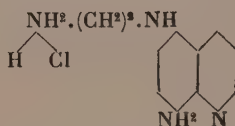
572



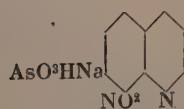
573



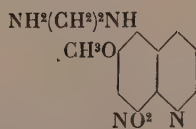
575



582

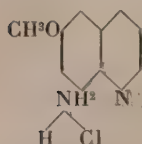


596



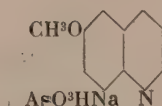
593

Amino-methoxy- et amino-éthoxy-quinoléines et dérivés.

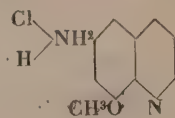


587

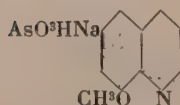
(Base de la plasmoquine).



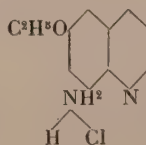
588



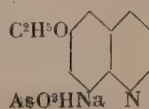
597



598



600



601

Nous donnons le tableau des toxicités des quinoléines ci-dessus; on arrive, en les comparant, à des remarques intéressantes :

NUMÉROS des produits	DOSE MAXIMA TOLÉRÉE comprise entre
570	0,0005-0,001
576	0,00025-0,0005
571	0,0005-0,001
574	0,0025-0,004
572	0,005-0,008
575	0,005-0,008
596	0,003-0,005
573	0,0025-0,005
582	0,0005
593	0,002
587	0,0005
588	0,003-0,005
597	0,010
598	0,005-0,008
600	0,003-0,005
601	0,003-0,005

Notes. — 1° Dans 50 p. 100 des cas les dérivés nitrés ne sont pas plus toxiques que les dérivés aminés correspondants;

2° Le remplacement de la fonction NH^2 par la fonction acide arsinique n'augmente pas la toxicité; il la diminue de dix fois sa valeur dans le cas du 587, base de la Plasmochine (588);

3° L'addition du groupement OCH^3 dans la molécule du 573 ne modifie pas la toxicité (593);

4° Le n° 600, dérivé éthoxylé, est dix fois moins toxique que le 587, dérivé méthoxylé correspondant;

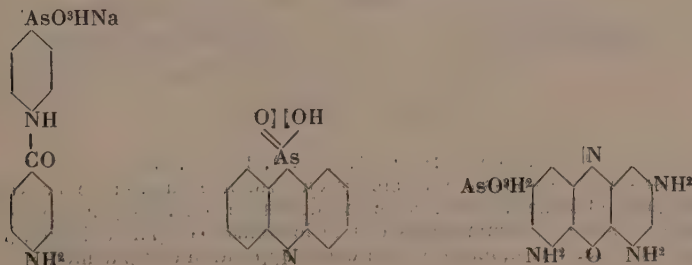
5° A noter aussi l'écart de toxicité entre le 587, base de la Plasmochine, et le 597, où les positions du groupement sont simplement inversées et qui est cependant vingt fois moins toxique.

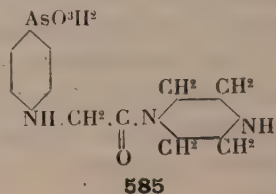
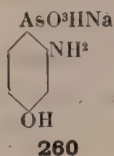
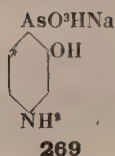
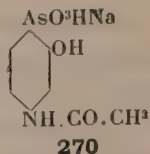
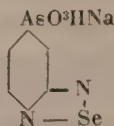
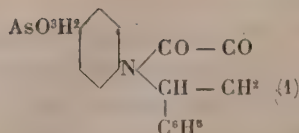
Les 588, 600 et 601 ont été essayés sur l'homme, sans résultats, bien que chez quelques oiseaux ils aient manifesté une certaine action. Par exemple, le 600, à la dose de 0,0005, préventivement amène quatre jours de retard; curativement, provoque une baisse du nombre des parasites après la troisième injection.

Métaux et métalloïdes.

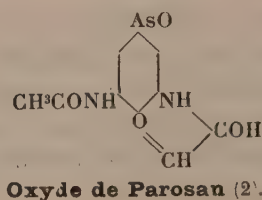
ARSENIC.

Le Stovarsol agit sur la tierce bénigne de l'homme. Nous avons vu que cette forme s'éloigne justement du paludisme des oiseaux sur lequel ce produit n'agit pas. Nous avons cependant tenté de renforcer la défense de l'organisme en le donnant à petite doses fortifiantes. L'examen des courbes des oiseaux traités préventivement à 0,005 et 0,0005 prouve qu'il n'apporte aucune aide.

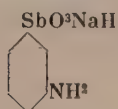




$\text{I}^2 \cdot \text{CH} \cdot \text{AsO}^3\text{HNa}$
Di-iodométhylarsinate de soude.



Antimoine.



et iodoantimoniate de quinine (émulsion huileuse).

Bismuth.

Solubyl.

Plomb.

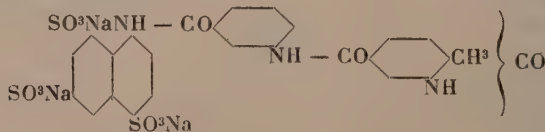
Diamyl-dithiocarbamate de Pb.
Campho carbonate de Pb.
Oléate de Pb (solution huileuse).

Mercure.

Mercurochrome.
Sel Stovarsol-mercure.
Combinaison aminophényl-acétique + salicylate de mercure.

Série du 205 Bayer.

205 Bayer (**309** Fourneau).



1910 Bayer, Asuntol.

(1) JOHNSON et ADAMS. *Journ. Amer. Ch. Soc.*, **1**, 1923, p. 1308.

(2) Il nous a été impossible de mettre en évidence l'action de l'oxyde de Parosan (May et Baker). Même avec les doses de 0 gr. 060 *per os* répétées six jours de suite et commencées dès le lendemain de l'inoculation, nous n'avons pu déceler le moindre retard dans l'apparition des plasmodies.

Divers.

Sulfate de pseudo-cinchona.

Dibromhydrate d'hydrobromocinchonine.

Harmine.

Oxy-quinine (préparé par M. Tiffeneau et M^{lle} Lévy).Oxy-quinidine (préparé par M. Tiffeneau et M^{lle} Lévy).

Chloracétyl-quinine.

Chloracétyl-quinine traitée par la soude (morpholone)

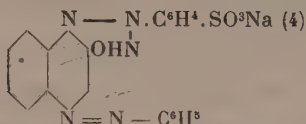
Lauryl choline.

Chlorure de stéarylcholine.

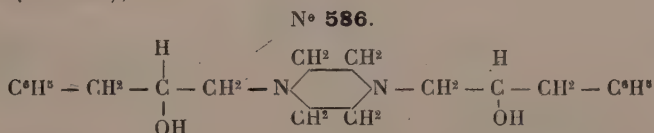
Pyréthrine.

Quinosol.

N° 4 (Charrier).



N° 22 (Oechslin);



Nous donnons dans le mémoire ci-après quelques indications sur la préparation et les propriétés des substances nouvelles signalées dans ce travail préliminaire.

*
* * *

C'est en Algérie même que MM. Ed. et Et. Sergent ainsi que M. Catanei ont bien voulu nous initier à la malaria des oiseaux. Nous leur renouvelons ici l'expression de toute notre reconnaissance pour leur accueil si bienveillant et les conseils particulièrement éclairés dont ils nous ont entourés pendant notre séjour à l'Institut Pasteur d'Alger.

BIBLIOGRAPHIE (1)

Pour la bibliographie allant jusqu'en 1904, consulter le travail de Wasielewski : *Studien und mikrophotogramme zur Kenntnis der Pathogenen Protozoen*, Leipzig, 1908.

1904. WASIELEWSKI, Plasmodies des oiseaux. *Pat. Protozoen Zweites*, n° 64.
1906. Ed. et Et. SERGENT, Sur l'halteridium [du pigeon. *C. R. Soc. de Biol.*, **61**, p. 494.
1907. Ed. et Et. SERGENT, Etude sur les hématozoaires des oiseaux. *Ces Annales*, **21**, p. 253.
1908. WASIELEWSKI. *Studien und mikrophotogramme zur Kenntnis der Pathogenen Protozoen*, J. A. Barth, Leipzig.
Ed. et Et. SERGENT, Sporozoïtes du *Plasmodium relictum*. *C. R. Ac. Sc.*, **147**, p. 439.
1910. Ed. et Et. SERGENT, Immunité dans le paludisme des oiseaux. *C. R. Ac. Sc.*, août 1910, p. 407.
G. AUSCHUTZ. *Zbl. f. Bakt.*, **1**, orig., **54**, p. 277.
1911. KOPENAHIS, Action de la quinine sur les infections à protéosome des oiseaux. *Arch. f. Schiff. et Trop. Hyg.*, **15**, 586.
1912. PROWAZEK. *Handbuch d. pathog. Protozoen*, **2**, p. 600, Barth, Leipzig.
Ed. et Et. SERGENT, Paludisme des oiseaux. Infection par frottis du thorax des moustiques sur la peau. *C. R. Soc. Biol.*, **73**, p. 36.
1914. MARKS. *Berl. kl. Woch.*, n° 49, p. 1886.
1917. Ed. SERGENT et Miss H. HEMPL, Immunité dans le paludisme des oiseaux. *Bull. Soc. Pathol. Ex.*, juillet 1917, p. 550.
1918. WHITMORE, Observations sur la malaria des oiseaux et pathogénèse des rechutes chez l'homme. *John Hopkin's Hospital Bullet.*, **24**, p. 62.
Ed. et Et. SERGENT, Sur le paludisme des oiseaux. *Ces Annales*, **32**, p. 382.
Ed. et Et. SERGENT, Disparition de la virulence du *P. relictum* chez le moustique. *Bull. Soc. Path. Ex.*, **11**, p. 281.
1919. Ed. et Et. SERGENT, Influence du froid sur le développement du *P. relictum* chez le moustique. *Bull. Soc. Path. Ex.*, **12**, p. 174.
Ed. et Et. SERGENT, Le *P. relictum* ne donne pas une maladie mortelle du moustique. *Bull. Soc. Path. Ex.*, **12**, 601.
1920. MESNIL et ROUBAUD. *Ces Annales*, **34**, p. 466.
Et. SERGENT, Diagnostic de l'infection latente dans le paludisme des oiseaux. *C. R. Soc. de Biol.*, juillet 1920.
1921. REICHENOW. *Zentr. f. Bakt.*, **1**, orig., **85**, p. 207.
Ed. et Et. SERGENT, Etudes expérimentales du paludisme. *Arch. Inst. Past. Afr. Nord*, mars, p. 1.
Ed. et Et. SERGENT, Avantages de la quininisation préventive démontrés et précisés expérimentalement (paludisme des oiseaux). *Ces Annales*, **11**.
S. FRAENKEL. *Arzneimittelsynthese*, Berlin, 1921, p. 243, Springer.

(1) Exclusivement sur le paludisme des oiseaux.

1921. Ed. et Et. SERGENT, Essais de vaccination [contre le paludisme des oiseaux dû au *P. relictum*. *C. R. Ac. Sc.*, 172, p. 296.
Ed. et Et. SERGENT, Quinisation préventive. *Bull. Soc. Path. Ex.*, 14, p. 72.
1922. Ed. et Et. SERGENT, Etude expérimentale du paludisme des oiseaux. Un même lot de moustiques peut infecter avec succès trois sujets. *C. R. Soc. de Biol.*, février, p. 349.
Ed. et Et. SERGENT, Suites des recherches sur l'action de la quinine, 23 et 24. Notes sur l'action d'autres produits que la quinine. *Arch. Inst. Past. Afr. Nord*, septembre, p. 340.
1923. Ed. et Et. SERGENT et A. CATANEL, Vaccination contre le paludisme des oiseaux obtenue par inoculation d'un petit nombre de sporozoïdes vivants. *C. R. Ac. Sc.*, 177, p. 364.
BEN HAMEL, Etude sur la malaria des oiseaux. Mécanisme des rechutes. *Amer. J. Hyg.*, 3, p. 652.
1924. MAZZA, Immunité relative dans la malaria des oiseaux. *J. of Trop. Med. et Hyg.*, 127.
Ed. et Et. SERGENT et A. CATANEL, Suite des essais de traitement par les produits de la quinine-cinchonine, 28 et 29. *Ann. Inst. Past. Alger*, 2, p. 443 et 445.
1925. GIEMSA. *Arch. f. Sch. et Tr. Hyg.*, 29, 479.
Ed. et Et. SERGENT et A. CATANEL, Action de la cinchonine et du stovarsol. *Ann. Inst. Past. Alger*, 3, p. 122.
1926. GIEMSA. *Arch. f. Sch. et Tr. Hyg.*, 30, p. 334.
ROEHL. *Beih. Arch. d. Sch. Tr. Hyg.*, 30, n° 3, p. 41.
BOYD. *Amer. J. of Hyg.*, 6, n° 1, p. 173.
MORGENROTH, Exp. Studien zur Malariabehandlung. *D. m. W.*, p. 1455.
1927. KIKUTH et TROPP, *Arch. et Trop. Jub. Nocht, Hamburg*, 1926, *D. m. W.*, 2, Univ. Abd., 1927.
ANNECKA. *Proc. Roy. Soc. of Med.*, 20, n° 3, janvier 1927.
HARMANN. *Amer. J. of Hyg.*, 7, juillet, p. 407.
DOUGALL. *Amer. J. of Hyg.*, 7, septembre, p. 635.
HARMANN. *Arch. f. Protist.*, 60; *Bull. Institut Pasteur*, n° 16, 1918.
HEGNER et MANWELL. *Amer. J. Trop. Med.*, 1, n° 5, p. 279.
TORCU, Macro et Microgametocytes. *Arch. f. Sch. et Trop. Hyg.*, 31, p. 212.
1928. GIEMSA. *Zft. f. ang. chem.*, juillet.
HEGNER, SHAW et MANWELL. *Amer. J. of Hyg.*, 8, juillet, p. 564.
Ed. et Et. SERGENT, Vingt-cinq années d'études et [de prophylaxie du paludisme en Algérie. *Ann. Institut Pasteur, Alger*, 6, p. 417-431.
Ed. et Et. SERGENT, Sur un parasite nouveau du paludisme des oiseaux. *C. R. Ac. Sc.*, 186, p. 309.
TALIAFERO, Retour au cycle asexué dans la malaria aviaire par les basses températures (*in vitro*). *J. pré. méd.*, 2.
TALIAFERO, Immunité acquise. *J. pré. méd.*, 2 et 3.
MANWELL, Rechutes dans la malaria des oiseaux. *Ann. of Hyg.*, 9, p. 308.

ÉTUDE SUR LA FONCTION ANTIGÉNIQUE DES LIPOIDES

par E. CÉSARI

On désigne couramment aujourd'hui sous le nom d'*antigène* les lipoides obtenus par extraction alcoolique de divers tissus organiques ou de corps microbiens (antigène de Bordet-Ruelens, antigène de Forssman, antigène de Nègre et Boquet), ces lipoides se montrant capables de fixer, *in vitro*, les principes des sérums qui remplissent le rôle d'anticorps. Ces antigènes lipoidiques ne sont pourtant pas toujours munis de la propriété essentielle qui caractérise par définition les antigènes vrais, à savoir : la faculté de provoquer la formation d'un anticorps correspondant dans les humeurs d'un organisme étranger auquel on les administre.

Ainsi nous avons montré, dans un précédent mémoire (1), que lorsqu'on pratique chez un lapin une série d'injections de lipoides isolés de la rate de cheval (antigène Forssman), le sérum de ce lapin n'acquiert point la propriété de flocculer les émulsions colloïdales de lipoides de rate de cheval, émulsions pourtant aisément flocculées par le sérum d'un lapin traité au moyen de cellules fraîches de rate de cheval. Nous nous sommes assuré, de même, que si l'on soumet un lapin à une série d'injections de lipoides extraits du cœur de porc (antigène de Bordet-Ruelens), le sérum de ce lapin ne manifeste aucune activité flocculante vis-à-vis des émulsions colloïdales de lipoides provenant du cœur de porc.

On arrive cependant, en les amalgamant avec certains constituants des sérums normaux, à investir ces lipoides d'un pouvoir antipoiétique actif dont ils étaient dépourvus à l'état pur. C'est ainsi que les lapins ayant reçu une série d'injections de ces complexes lipoido-albumineux fournissent des sérums qui

(1) Etude sur la flocculation des extraits alcooliques d'organes par les sérums normaux et les anti-sérums. Ces *Annales*, avril 1922.

ont acquis la propriété de flocculer les suspensions colloïdales des lipoides utilisés dans le traitement.

Nous nous sommes proposé d'étudier les propriétés flocculantes des antisérums, obtenus en partant de complexes formés par la conjugaison de lipoides de diverses origines et des albumines des sérums de différentes espèces animales, vis-à-vis des suspensions colloïdales des lipoides correspondants. Nous avons été amené ensuite à déterminer les rôles respectifs du constituant lipoidique et du constituant albumineux dans la fonction antipoiétique dévolue au complexe antigène par l'union des deux facteurs.

Nos expériences ont porté principalement sur les lipoides du cœur de porc, de la rate de cheval, du foie de bœuf, du bacille tuberculeux.

Préparation des antisérums. — A 20 cent. cubes d'une suspension colloïdale de lipoides, obtenue en laissant tomber goutte à goutte de l'eau physiologique dans 4 cent. cubes d'extract éthylrique d'organe, préparé selon la technique classique de Bordet-Ruelens, ou d'extract méthylrique de Nègre et Boquet, on ajoute 4 cent. cubes de sérum normal chauffé. Le mélange est laissé en repos à l'étuve, à 37°, pendant 24 heures. On le soumet ensuite à une centrifugation prolongée et le dépôt obtenu, finement émulsionné, est repris dans 10 cent. cubes d'eau physiologique et injecté dans la veine d'un lapin. On pratique ainsi, successivement, quatre injections à cinq jours d'intervalle. L'animal est saigné le septième jour qui suit la dernière injection. Le sérum recueilli est chauffé à 56° pendant une demi-heure.

Nos premiers essais ont porté sur les antisérums préparés en partant de complexes formés avec le sérum de bœuf, que nos recherches antérieures nous avaient montré particulièrement apte à s'unir aux lipoides organiques.

Les propriétés acquises par le sérum des lapins traités ont été recherchées par l'épreuve de la flocculation, effectuée selon la technique décrite dans notre précédent travail.

Le tableau I indique les résultats obtenus.

Pas plus que dans nos recherches précédentes, l'examen des résultats ne fait ressortir les indices d'une spécificité stricte pouvant être rapportée soit à l'espèce zoologique, soit à la nature de l'organe d'où sont issus les lipoides employés dans ces expériences.

On relève, en effet, que si l'antisérum obtenu en partant du complexe (lipotide cœur de porc + sérum de bœuf) floccule en

présence des lipoides du cœur de porc, il floccule également au contact des lipoides des cœurs de cheval, de bœuf, de mouton, de chien et de lapin, et floccule de même en présence des lipoides de rate et de foie de ces diverses espèces animales. Il est à noter

TABLEAU I.

FLOCCULATION de l'émulsion colloïdale de lipoides	SÉRUMS DE LAPINS TRAITÉS PAR DES COMPLEXES (sérums de bœuf + lipoides)			
	De cœur de porc	De rate de cheval	De foie de bœuf	De bacilles tuberculeux
De cœur de porc	+++	0	+++	+++
De rate de porc	++	0	0	0
De foie de porc	+++	0	+++	++
De cœur de cheval . . .	+++	++	+++	+
De rate de cheval . . .	+	+++	+++	0
De foie de cheval . . .	+++	0	+++	+
De cœur de bœuf	++	0	+++	+
De rate de bœuf	0	0	+++	0
De foie de bœuf	+++	0	+++	+
De cœur de mouton . .	+++	0	+++	0
De rate de mouton . . .	+	0	++	0
De foie de mouton . . .	+++	0	+++	0
De cœur de chien	+++	+++	+++	++
De rate de chien	+	+++	++	0
De foie de chien	+++	0	+++	0
De cœur de lapin	+++	0	++	++
De rate de lapin	+++	0	+++	0
De foie de lapin	+++	0	+++	++
De bacilles tuberculeux.	+++	0	0	+++

que la flocculation se manifeste, en outre, au regard des lipoides du bacille tuberculeux.

Par contre, l'antisérum préparé avec le complexe (lipoïde rate de cheval + sérum de bœuf) offre des réactions qui décèlent une électivité plus restreinte; il ne fournit en effet de flocculation qu'en présence des lipoides provenant des cœurs et des rates de cheval, de chien et de cobaye. C'est dire que nous retrouvons ici (comme dans notre premier travail) les réactions

qui caractérisent l'intervention de l'antigène Forssman (1). Il convient cependant de remarquer que les lipoides correspondant à la rate de cheval, de chien ou de cobaye sont également floculés par des antisérums obtenus en partant de complexes où le facteur lipoidique provient d'organes (cœur de porc ou foie de bœuf) dépourvus de l'antigène Forssman.

Quant à l'antisérum correspondant au complexe (lipuide foie de bœuf + sérum de bœuf), il flocule indistinctement à peu près tous les lipoides éprouvés, mais se montre inactif au regard des lipoides du bacille tuberculeux.

Enfin, l'antisérum obtenu en traitant le lapin avec le complexe (lipuide du bacille tuberculeux + sérum de bœuf) manifeste son activité floculante vis-à-vis des lipoides du bacille tuberculeux et aussi des lipoides des cœurs de porc, de bœuf, de chien, de lapin, de cheval et des foies de porc, de lapin, de bœuf et de cheval.

Dans leur ensemble, ces résultats confirment donc les conclusions de notre précédent travail. Le phénomène que manifeste la flocculation apparaissant dans les mélanges d'un antisérum, obtenu en partant d'un complexe lipuido-albumineux, et d'une suspension colloïdale de lipuide, ne paraît pas lié à une réaction strictement spécifique. L'interprétation du phénomène dans le sens d'une réaction d'antigène et d'anticorps entraîne, comme corollaire, l'hypothèse de la banalité de la matière antigène représentée par les lipoides obtenus par extraction alcoolique des tissus organiques (et du bacille tuberculeux). Il reste à voir si ces lipoides ne seraient point constitués par l'assemblage de plusieurs éléments antigènes lipoidiques diversement combinés dont la spécificité particulière se

(1) Nous devons signaler toutefois que les sérums de lapins traités par le complexe (lipuide rate de cheval + sérum de bœuf) ne possèdent pas toutes les propriétés singulières des antisérums du type Forssman. Si le pouvoir hémolytique de ces antisérums vis-à-vis des globules de mouton correspond à peu de chose près à celui des antisérums préparés soit avec des hématies de mouton, soit avec des cellules fraîches de rate de cheval, leur toxicité à l'égard du cobaye est pour ainsi dire nulle. C'est un nouvel argument, ajouté à ceux que nous avons précédemment fournis avec M. Nicolle (*Etudes sur la toxicité et l'hémotoxicité des sérums normaux et des antisérums*, *Journal de Physiologie et de Pathologie générale*, 16, n° 5, septembre 1915, p. 902), qui vient à l'appui de la conception dualiste émise à propos des rapports qui existent entre la toxine et l'hémotoxine des antisérums du type Forssman.

trouverait fondue dans une polyvalence antigène banale, réalisée par leur association.

Cette conception, qui trouve une apparence de fondement dans les réactions déjà nettement singularisées qui caractérisent les antigènes lipoidiques du type Forssman, se trouve appuyée par les expériences rapportées ci-après, effectuées suivant le protocole des essais mentionnés dans notre premier mémoire et basés sur l'adsorption élective du principe floculant d'un antisérum par l'antigène lipoidique prédominant dans l'extrait alcoolique du tissu (ou du bacille tuberculeux) qui a servi à obtenir l'antisérum correspondant.

Nous avons expérimenté avec les antisérums préparés en partant des complexes formés, à l'aide du sérum de bœuf, avec les lipoides extraits : 1° du cœur de porc ; 2° de la rate de cheval ; 3° du bacille tuberculeux.

TECHNIQUE. — On met en contact, pendant 24 heures, chaque sorte d'antisérum (4 cent. cubes) avec le résidu pâteux obtenu par évaporation de 5 cent. cubes d'extrait alcoolique de lipoides. Les divers antisérums récupérés par filtration sur papier mouillé sont ensuite éprouvés, comparativement avec le sérum originel, au point de vue de leur pouvoir floculant direct et croisé vis-à-vis des émulsions colloïdales des lipoides correspondants.

Les résultats de ces expériences, consignés dans le tableau II, paraissent bien confirmer l'hypothèse émise ci-dessus, en ce sens que, aussi bien dans le cas de l'antisérum correspondant au complexe (lipuide cœur de porc + sérum de bœuf) que dans le cas de l'antisérum (lipuide du bacille tuberculeux + sérum de bœuf), les principes floculants actifs à la fois sur les émulsions colloïdales de lipoides de cœur de porc et de bacilles tuberculeux se trouvent dissociés par la fixation. Dans l'un comme dans l'autre cas, en effet, les lipoides du cœur de porc ont retenu uniquement la fraction de l'antisérum qui flocule les lipoides du cœur de porc et ont respecté la fraction qui flocule les lipoides du bacille tuberculeux ; inversement, les lipoides du bacille tuberculeux ont adsorbé seulement la fraction de l'antisérum qui flocule les lipoides du bacille tuberculeux en laissant disponible la fraction qui flocule les lipoides du cœur de porc. En adoptant la terminologie commode dont on use habituellement pour interpréter les phénomènes sérologiques, on peut dire que chacun de ces deux antisérums

possède à la fois deux « *floculines* », dont l'une correspond à l'antigène lipodique prédominant dans les bacilles tuberculeux et l'autre correspond à l'antigène lipodique prédominant dans

TABLEAU II.

FLOCCULATION en présence d'une suspension colloïdale de lipoides	ANTISÉRUM DE LAPIN TRAITÉ PAR LE COMPLEXE (lipoides de cœur de porc + sérum de bœuf)			
	Tel quel	Après contact avec les lipoides de cœur de porc	Après contact avec les lipoides de rate de cheval	Après contact avec les lipoides de bacilles tuberculeux
De cœur de porc	+++	0	+++	+++
De rate de cheval . . .	+	0	0	0
De bacilles tuberculeux.	+++	++	+++	0
FLOCCULATION en présence d'une suspension colloïdale de lipoides	ANTISÉRUM DE LAPIN TRAITÉ PAR LE COMPLEXE (lipoides de rate de cheval + sérum de bœuf)			
	Tel quel	Après contact avec les lipoides de cœur de porc	Après contact avec les lipoides de rate de cheval	Après contact avec les lipoides du bacille tuberculeux
De rate de cheval . . .	+++	++	0	+++
FLOCCULATION en présence d'une suspension colloïdale de lipoides	ANTISÉRUM DE LAPIN TRAITÉ PAR LE COMPLEXE (lipoides de bacilles tuberculeux + sérum de bœuf)			
	Tel quel	Après contact avec les lipoides de cœur de porc	Après contact avec les lipoides de rate de cheval	Après contact avec les lipoides de bacilles tuberculeux
De cœur de porc	+++	0	++	+++
De rate de cheval . . .	0	0	0	0
De bacilles tuberculeux.	+++	+++	+++	0

le cœur de porc, la spécificité de chacune de ces *floculines* étant mise *négativement* en relief par sa fixation élective sur le lipode homologue. On doit donc admettre, par récurrence, que les lipoides obtenus par extraction alcoolique du cœur de porc et les lipoides préparés par extraction méthylique des corps

des bacilles tuberculeux possèdent (au moins) deux facteurs antigènes spécifiques qui leur sont communs.

Les communautés antigéniques que révèlent les expériences de floculation directe par les sérums normaux de bœuf et de porc (voir notre précédent mémoire) et par les antisérums obtenus à l'aide des complexes lipéido-albumineux donnent à penser que les antigènes élémentaires strictement spécifiques que l'on trouve assemblés dans les lipéides des diverses cellules doivent être en nombre assez restreint et que leur association ne réalise qu'un petit groupe de combinaisons différant sans doute beaucoup plus entre elles du point de vue quantitatif que du point de vue qualitatif, hormis le cas des lipéides du type Forssman dont la distribution est particularisée à quelques tissus et limitée à quelques espèces animales.

Nous devons noter ici que la réaction qui intervient entre les antisérums dont il est question ci-dessus et les lipéides se manifeste, en plus de la floculation dont nous venons de parler, par la fixation du complément surajouté. C'est dire que les sérums des lapins traités soit par le complexe (lipéides cœur de porc + sérum de bœuf), soit par le complexe (lipéides du bacille tuberculeux + sérum de bœuf) se comportent, au point de vue de la réaction de Bordet-Wassermann, comme les sérums de sujets syphilitiques. Il est par conséquent tout à fait vraisemblable que l'on pourrait arriver à conférer artificiellement à un homme sain, en le soumettant à une série d'injections des mêmes complexes lipéido-albumineux, les caractéristiques qui, au regard des réactions diagnostiques portant sur son sérum, feraient considérer le sujet comme atteint de syphilis.

Cette notion donne sa signification à la concomitance, souvent observée, des réactions de déviation du complément, obtenues à la fois vis-à-vis de l'antigène de Bordet-Ruelens et de l'antigène méthylique tuberculeux; elle explique le fait, controversé mais maintes fois signalé, que certains individus affectés de tuberculose, notamment de tuberculose cutanée, présentent parfois une réaction de Bordet-Wassermann positive.

La possibilité de dévier chaque fraction spécifique des anticorps de l'antisérum, par fixation sur l'antigène prédominant du lipéide global, provenant soit du cœur d'une part, soit du bacille tuberculeux d'autre part, donnerait peut-être le moyen,

si cette technique était appliquée aux sérums soumis aux épreuves sérologiques relatives à la syphilis ou à la tuberculose, de résoudre éventuellement l'ambiguïté créée par l'existence d'éléments communs aux deux sortes d'antigènes lipodiques.

FACTEURS ANTIPLOÏÉTIQUES DES COMPLEXES LIPOÏDO-ALBUMINEUX.

Les lipoides organiques démunis, lorsqu'ils sont pris isolément, de la faculté antiploïétique acquièrent, avons-nous dit, le pouvoir d'engendrer, chez le lapin, des antisérums actifs au point de vue de la floculation des suspensions colloïdales de lipoides, quand on les associe à du sérum de bœuf pour former un complexe lipoido-albumineux.

Le sérum de bœuf possède normalement le pouvoir de floculer la plupart des lipoides organiques et c'est cette raison qui nous l'avait fait choisir pour constituer les complexes lipoido-albumineux destinés à être injectés aux lapins à titre d'antigène.

La question se posait de savoir si la propriété antigénique des complexes lipoido-albumineux ne tenait pas essentiellement à l'état physique particulier dévolu aux lipoides floculés par le sérum de bœuf.

Cette hypothèse ne nous paraît point devoir être retenue. Nous n'avons jamais réussi en effet à obtenir des antisérums floculants en administrant au lapin des lipoides organiques floculés par diverses substances chimiques. Nous avons échoué, de même, en utilisant des lipoides de rate de cheval intensément floculés par l'addition de sérum de lapin, préalablement traité par une série d'injections de globules rouges de mouton (Antisérum du type Forssman). Par contre, le sérum de cheval, qui ne flocule point spontanément les émulsions colloïdales de lipoides, peut être substitué au sérum de bœuf, dans les conditions fixées dans la technique ci-dessus décrite, pour former un complexe (lipuide cœur de porc + sérum de cheval) qui, administré au lapin, provoque la formation d'un antisérum floculant.

D'un autre côté, ayant constaté que tous les antisérums floculants préparés chez le lapin à l'aide d'un complexe (lipuide + sérum) se montraient faiblement, mais nettement et spécifiquement précipitants vis-à-vis du sérum entrant dans

la composition du complexe, qu'il s'agit de sérum de bœuf, de sérum de porc ou de sérum de cheval, nous devons nous demander si le pouvoir flocculant des antisérums n'était pas lié à l'existence de ces anticorps précipitants. L'expérience montre qu'il n'en est rien, car nous avons vérifié que des antisérums fortement précipitants préparés chez le lapin par des injections répétées de sérum de bœuf ou de cheval ne jouissaient d'aucun pouvoir flocculant à l'égard des émulsions colloïdales de lipoides.

Il restait à examiner les rôles réciproques de chacun des constituants du complexe antigène, envisagé du côté zoologique. Pour étudier cette question nous avons préparé, en nous adressant toujours au lapin comme animal fournisseur, des antisérums en partant des complexes suivants :

- a) Lipoides cœur de porc + sérum de bœuf.
- b) Lipoides cœur de porc + sérum de porc.
- c) Lipoides cœur de porc + sérum de lapin.
- d) Lipoides cœur de lapin + sérum de bœuf.
- e) Lipoides cœur de lapin + sérum de porc.
- f) Lipoides cœur de lapin + sérum de lapin.

Éprouvés au point de vue de leur activité vis-à-vis d'émulsions colloïdales de lipoides de cœur de porc et de cœur de lapin, les quatre antisérums obtenus avec les complexes (lipoides cœur de porc ou cœur de lapin + sérum de bœuf ou sérum de porc) se sont montrés doués du pouvoir flocculant.

Au contraire, les deux antisérums obtenus à l'aide des complexes (lipoides cœur de porc ou cœur de lapin + sérum de lapin) n'ont manifesté aucune activité flocculante.

Ces résultats montrent que la fonction antipoiétique n'est dévolue au complexe antigène que par les sérums hétérologues par rapport à l'espèce animale qui doit produire l'antisérum, la provenance du lipuide demeurant complètement indifférente à cet égard.

SUR LA RÉPARTITION DU NICKEL ET DU COBALT DANS LES PLANTES,

par MM. GABRIEL BERTRAND et M. MOKRAGNATZ.

Il y a quelques années, nous avons découvert et même réussi à doser de très petites proportions de nickel et de cobalt dans plus de vingt échantillons d'organes végétaux, principalement d'usage alimentaire, appartenant à 18 espèces différentes (1). Nous avons poursuivi cette étude en la faisant porter sur de nouveaux organes, ou sur des organes provenant d'espèces autres que les premières, d'abord pour éprouver à quel point les résultats déjà obtenus peuvent être considérés comme généraux, ensuite pour mieux connaître la manière dont le nickel et le cobalt se répartissent dans la matière végétale.

Aucun changement n'a été apporté à la marche des expériences : les mêmes précautions ont été prises pour la préparation des échantillons, les mêmes méthodes ont été suivies pour les analyses. C'est donc finalement à l'état de nickeldiméthylglyoxime ou de cobaltonitrite de potassium et de sodium que les deux métaux ont été séparés et pesés. Dans le petit nombre de cas où la quantité de cobalt présente dans la prise d'essai n'atteignait pas le poids minimum de 0 milligr. 005, nécessaire à la production des cristaux de cobaltonitrite, nous avons terminé le dosage volumétriquement (2).

Les nouvelles expériences, mentionnons-le tout de suite, confirment l'existence générale du nickel et du cobalt dans les plantes que les premières avaient permis de concevoir. Elles confirment également que les proportions du nickel sont toujours supérieures et parfois notablement à celles du cobalt.

En tenant compte de l'ensemble des dosages effectués (voir le tableau) et en les rapportant aux poids de matières végétales

(1) *C. R. Ac. Sc.*, **175**, 1922. p. 458 et *Bull. Soc. chim.*, 4^e série, **37**, 1925, p. 554.

(2) *Loco citato*.

TABLEAU I.

PLANTES OU PARTIES DE PLANTES ANALYSÉES	MATIÈRES sèches p. 100	MILLIGRAMMES par kilogramme de matière sèche	
		Nickel	Cobalt
Gyrole (<i>Canthar. cibar.</i> Fr.), entière.	8,00	3,50	2,13
Avoine (<i>Aven. sat.</i> L.), graine entière).	88,80	0,45	Indéc. (1).
Avoine (<i>Aven. sat.</i> L.), son	90,80	0,44	0,011
Froment (<i>Trit. sat.</i> L.), graine entière.	86,11	0,35	0,012
Froment (<i>Trit. sat.</i> L.), son.	88,93	0,39	0,011
Maïs (<i>Zea mays</i> L.), graine entière	88,00	0,14	0,011
Riz (<i>Oriza sat.</i> L.), endosperme poli	88,00	0,017	0,006
Oignon (<i>Allium cepa</i> L.), bulbe	15,30	0,16	0,13
Charme (<i>Carp. bet.</i> L.), bois	79,80	0,12	0,04
Charme (<i>Carp. bet.</i> L.), écorce	90,50	0,40	0,10
Hêtre (<i>Fag. sylvat.</i> L.), feuilles	45,97	3,00	0,35
Hêtre (<i>Fag. sylvat.</i> L.), bois	75,00	0,60	0,20
Hêtre (<i>Fag. sylvat.</i> L.), écorce.	90,15	2,00	0,30
Noyer (<i>Jug. reg.</i> L.), amande entière	88,71	0,60	0,05
Noyer (<i>Jug. reg.</i> L.), coque	95,00	0,35	0,04
Figuier (<i>Ficus car.</i> L.), fruit entier	82,94	1,20	0,20
Sarrasin (<i>Polyg. fag.</i> L.), fruit entier (2).	82,35	1,34	0,36
Épinard (<i>Spinac. oler.</i> L.), feuilles.	6,76	2,37	0,074
Pomme de terre (<i>Sol. tub.</i> L.), tubercule	23,78	0,25	0,063
Tomate (<i>Lycop. esc.</i> Dun.), fruit entier	5,19	0,15	0,096
Lilas (<i>Syring. vulg.</i>), fleurs	26,67	3,00	0,90
Lilas (<i>Syring. vulg.</i>), tiges.	78,12	1,00	0,50
Laitue (<i>Lactuc. sat.</i> L.), partie aérienne	4,64	1,51	0,054
Café (<i>Coff. arab.</i> L.), graine	89,83	0,38	0,002
Carotte (<i>Dauc. car.</i> L.), n° 1, feuille.	9,57	1,83	0,34
Carotte (<i>Dauc. car.</i> L.), n° 1, racine.	14,00	0,21	0,02
Carotte (<i>Dauc. car.</i> L.), n° 2, racine.	10,50	0,29	Indos.
Abricotier (<i>Armen. vulg.</i> Lmk.), feuille	31,26	3,00	0,30
Abricotier (<i>Armen. vulg.</i> Lmk.), péricarpe charnu	15,63	0,64	0,032
Abricotier (<i>Armen. vulg.</i> Lmk.), amande entière	84,09	0,30	0,005
Abricotier (<i>Armen. vulg.</i> Lmk.), coque du noyau.	88,89	0,15	0,003
Cerisier (<i>Ceras. vulg.</i> L.), péricarpe charnu	19,97	0,50	0,005
Cerisier (<i>Ceras. vulg.</i> L.), pédoncule.	55,26	2,00	0,10
Cerisier (<i>Ceras. vulg.</i> L.), amande entière	86,62	0,60	0,005
Cerisier (<i>Ceras. vulg.</i> L.), coque du noyau	87,87	0,10	0,005
Poirier (<i>Pir. comm.</i> L.), pelure	31,29	1,30	0,18
Poirier (<i>Pir. comm.</i> L.), fruit pelé.	14,89	0,90	0,04
Prunier (<i>Prun. dom.</i> L.), péricarpe charnu (3).	77,56	0,90	0,03
Prunier (<i>Prun. dom.</i> L.), amande entière	86,24	0,50	0,03
Prunier (<i>Prun. dom.</i> L.), coque du noyau	88,68	0,05	Trace.
Haricot (<i>Phas. vulg.</i> L.), gousse jeune.	13,45	2,60	0,037
Haricot (<i>Phas. vulg.</i> L.), graine mûre	92,40	0,59	0,011
Lentille (<i>Erv. lens</i> L.), graine entière	84,80	1,61	0,354
Pois (<i>Pis. sat.</i> L.), graine entière	89,00	2,25	0,028
Vigne (<i>Vit. vin.</i> L.), grain mûr entier.	19,91	0,10	0,025
Vigne (<i>Vit. vin.</i> L.), tige.	33,12	1,50	0,15
Oranger (<i>Cit. aur.</i> Risso), écorce du fruit.	33,12	0,16	0,04
Tilleul (<i>Tilia europ.</i> L.), feuille).	46,43	2,50	0,20
Tilleul (<i>Tilia europ.</i> L.), bois	80,46	0,60	0,10
Tilleul (<i>Tilia europ.</i> L.), écorce	80,25	2,10	0,15
Chou (<i>Brass. oler.</i> cap. D. C.), feuille	55,71	3,30	0,07
Cresson (<i>Nast. off.</i> R. Br.), tige feuillue.	8,00	0,50	0,15

(1) C'est-à-dire indécelé.

(2) Communément appelé graine.

(3) L'expérience a porté sur la prune séchée dite pruneau.

sèches, afin de les rendre plus faciles à comparer, on arrive aux conclusions suivantes :

1° Il y a un certain parallélisme entre les proportions de nickel et celles de cobalt, en ce sens que les organes ayant une teneur faible, une teneur moyenne ou une teneur élevée en nickel sont presque toujours ceux qui ont une teneur faible, moyenne ou élevée en cobalt.

2° Les feuilles sont, d'une manière générale, les organes les plus riches. Nous avons trouvé, par exemple :

FEUILLES DE	MILLIGRAMMES par kilogramme de matière sèche	
	Nickel	Cobalt
Laitue	1,51	0,054
Carotte	1,83	0,314
Epinard	2,37	0,074
Tilleul	2,50	0,20
Abricotier	3,0	0,30
Hêtre	3,0	0,35
Chou	3,3	0,07

3° Les graines sont parmi les organes qui, après les feuilles, renferment le plus de nickel et de cobalt.

GRAINES DE	MILLIGRAMMES par kilogramme de matière sèche	
	Nickel	Cobalt
Maïs	0,14	0,011
Froment	0,35	0,012
Café	0,38	0,002
Avoine	0,45	Indos.
Prunier	0,50	0,006
Haricot blanc	0,59	0,011
Noyer	0,60	0,05
Cerisier	0,60	0,005
Abricotier	0,80	0,005
Sarrasin	1,34	0,36
Lentille	1,61	0,35
Pois	2,25	0,028

4° Contrairement à ce qui s'est présenté pour d'autres corps simples, métalloïdes ou métaux, nous n'avons pas trouvé que les téguments de la graine aient une teneur beaucoup plus élevée que l'amande, tout au moins dans le cas du froment et

dans celui de l'avoine, examinés à ce point de vue. Nous n'avons dosé, en effet, dans le son de froment que 0 milligr. 39 de nickel et 0 milligr. 011 de cobalt, et dans celui de l'avoine que 0 milligr. 44 de nickel et 0 milligr. 011 de cobalt.

Remarquons toutefois que l'amande de riz décortiquée et polie s'est montrée extrêmement pauvre en nickel et en cobalt puisque nous n'y avons rencontré que 0 milligr. 02 du premier et 0 milligr. 006 du second par kilogramme de matière sèche. C'est une pauvreté en métaux lourds qui va de pair avec celle qui a déjà été signalée à propos du manganèse, du zinc, du titane, comme de plusieurs autres substances minérales ordinairement présentes dans les graines.

5° En ce qui concerne les tiges, le nickel et le cobalt sont plus abondants dans l'écorce que dans le bois. Nous avons trouvé :

TIGES DE	MILLIGRAMMES par kilogramme de matière sèche	
	Nickel	Cobalt
Lilas	1,00	0,50
Vigne	1,30	0,15
Charme, bois	0,12	0,01
Charme, écorce	0,40	0,10
Hêtre, bois	0,60	0,20
Hêtre, écorce	2,00	0,30
Tilleul, bois	0,60	0,10
Tilleul, écorce	2,10	0,15

6° Les parties fortement lignifiées constituant les coques protectrices de certaines graines sont pauvres en nickel et en cobalt :

COQUES DE	MILLIGRAMMES par kilogramme de matière sèche	
	Nickel	Cobalt
Noyau de prune	0,05	Trace.
Noyau de cerise	0,10	0,005
Noyau d'abricot	0,15	0,003
Noyau de noix	0,35	0,010

7° Les organes ou tissus parenchymateux provenant de fruits, de racines, de bulbes ou de tubercules servant à l'alimentation offrent, en général, à l'état sec, une teneur moyenne.

Ils ne renferment donc, à l'état frais, à cause de leur richesse en eau (aux environs de 70 à 90 p. 100), que très peu de nickel et de cobalt. Par exemple :

ORGANES OU TISSUS PARENCHYMATEUX	MILLIGRAMMES par kilogramme de matière sèche	
	Nickel	Cobalt
Tomate (fruit entier)	0,154	0,096
Orange (écorce du fruit).	0,16	0,04
Oignon (bulbe)	0,163	0,13
Carotte (racine cultivée, n° 1).	0,214	Indos.
Pomme de terre (tubercule).	0,252	0,063
Carotte (racine cultivée, n° 2)	0,286	0,021
Cerisier (partie charnue du fruit)	0,50	0,005
Abricotier (partie charnue du fruit)	0,64	0,032
Prunier (partie charnue du fruit).	0,90	0,03
Poirier (partie charnue du fruit).	0,90	0,01
Figuier (fruit entier).	1,20	0,20

8° La gyrole ou chanterelle comestible (*Cantharellus cibarius* Fr.), de la classe des champignons, est jusqu'ici l'espèce végétale dans laquelle nous avons trouvé la plus haute teneur en nickel et en cobalt (à l'état sec : Ni 3 milligr. 5, Co 2 milligr. 15; à l'état frais : Ni 0 milligr. 28, Co 0 milligr. 17).

En résumé, le nickel et le cobalt existent dans toutes les plantes, cryptogames ou phanérogames, qui ont été examinées. Les proportions en sont très petites. On peut les évaluer à une partie de nickel pour plusieurs millions de parties de plante vivante et à cinq à dix fois moins encore de cobalt.

Il n'est pas impossible, malgré cette grande dilution, que le nickel et le cobalt interviennent comme catalyseurs dans les cellules végétales. Ce que l'on sait, qualitativement et quantitativement, du rôle de plusieurs autres corps simples, tels que le manganèse et le bore, dans les phénomènes de la vie des plantes, l'accumulation que nous venons de reconnaître du nickel et du cobalt dans les feuilles et dans les graines, l'influence, enfin, des deux métaux en question dans les échanges nutritifs (1) et, particulièrement, dans la fonction glycolytique (2) des animaux, autorisent à en formuler l'hypothèse.

(1) Gab. BERTRAND et H. NAKAMURA. *C. R. Ac. Sc.*, 185, 1927, p. 321.

(2) Gab. BERTRAND et M. MACHEBOEUF. *C. R. Ac. Sc.*, 182, 1926, p. 1504; 183, 1926, p. 5 et 257. — Gab. BERTRAND. *Science*, 64, 1926, p. 629.

SUR LE BACILLE DU RHINOSCLÉROME ET LES DIVERSES ESPÈCES DE BACILLES MUQUEUX

par le professeur B. J. ELBERT et M^{lle} W. M. GUERKESS

*(Institut Microbiologique d'État de la Russie Blanche,
Directeur : Professeur B. Elbert.)*

C'est en Russie blanche, en Ukraine et en Pologne que l'on observe les plus importants foyers de rhinosclérome. 278 cas ont été signalés en Russie de 1886 à 1926, mais le nombre réel est beaucoup plus élevé : 400 cas en Russie blanche au cours de ces quatre ou cinq dernières années; 131 cas en une seule année (1926-1927) à Jitomir en Ukraine (Korjansky); 273 cas en Pologne, à la clinique de Pieniazek, de 1894 à 1910 (Pachonski). Le rhinosclérome a été constaté également en Yougoslavie (A. Sercer), en Italie, en France, en Allemagne, au Danemark, au Maroc, aux Indes, à Sumatra (Snidjers et Stoll), au Japon (Takeuchi Nobuyuki), au Brésil, au Guatemala (A. Castellani).

En Pologne, la maladie devient de plus en plus fréquente surtout parmi les individus originaires de la Galicie orientale. Les femmes sont deux fois plus souvent atteintes que les hommes; les sujets de dix à vingt ans fournissent 30 p. 100 des cas et ceux de vingt à trente ans plus de 40 p. 100 des cas.

En général, elle frappe plusieurs membres de la même famille sans qu'on puisse préciser le mécanisme de la transmission. Certains auteurs admettent qu'il s'agit d'une infection directe, par contact (Sérier, Lehm); d'autres mettent en cause les animaux domestiques, les porcs en particulier, chez lesquels Dor et Leblanc ont isolé un bacille identique au bacille de Frisch, agent supposé du rhinosclérome.

Séro-diagnostic du rhinosclérome.

A. — RÉACTION DE FIXATION DU COMPLÉMENT.

Nous employons, comme antigène, une culture de dix-huit à vingt-quatre heures de bacilles de Frisch sur gélose, émulsionnée dans 5 à 6 cent. cubes d'eau physiologique et stérilisée par chauffage à 70°. Cette émulsion possède un certain pouvoir anticomplémentaire que l'on titre par les méthodes habituelles, en mélangeant des doses décroissantes de l'antigène avec 0 c. c. 25 de sérum humain normal inactivé et 0 c. c. 25 d'alexine au 1/10. On laisse ce mélange pendant une heure à l'étuve, puis on ajoute le système hémolytique.

La réaction de fixation s'effectue en prenant comme dose d'antigène la dose minima qui n'empêche pas l'hémolyse; on ajoute 0 c. c. 2 de sérum, la dose convenable d'alexine, et on complète le volume du mélange à 2 c. c. 5. On lit les résultats lorsque l'hémolyse est totale dans les tubes témoins. Sur 679 examens de sang provenant de sujets vivant en milieu endémique (Russie blanche), la réaction a été positive dans 250 cas, douteuse dans 10 cas, et nettement négative dans tous les autres cas. 99 cas cliniques de rhinosclérome ont tous donné une réaction de fixation positive pour le bacille de Frisch et une réaction de Bordet-Wassermann négative; 15 cas suspects ont donné 11 réactions positives.

Sur 216 sérums provenant de sujets non suspects de rhinosclérome, la réaction a été positive dans 5 cas, dont 4 se rapportaient à des frères de malades scléromateux. Il paraît rationnel de supposer que les sujets cliniquement indemnes, dont le sérum a fixé le complément en présence du bacille de Frisch, étaient en puissance de sclérome sous une forme latente ou sous une forme atypique.

La réaction de fixation est toujours positive, quelle que soit la localisation du processus scléromateux, dans les cas récents (trois à six mois) comme dans les cas anciens (dix ans).

Concurremment avec l'examen clinique, nous avons utilisé la réaction de fixation comme moyen d'examen des individus

vivant en permanence dans les foyers endémiques, ce qui nous a permis de confirmer l'existence de la maladie dans plusieurs cas suspects.

De même que les anticorps du sérum des malades scléromateux, les anticorps du sérum des lapins hyperimmunisés par des inoculations répétées de bacilles de Frisch fixent le complément en présence de ce microbe. Lorsqu'on veut préciser la nature des germes isolés de sécrétions suspectes, on inocule à des lapins, à quatre ou cinq reprises, par la voie veineuse, les cultures obtenues, puis on les saigne et on effectue la réaction de fixation en éprouvant leur sérum avec une série d'antigènes connus (bacille de Frisch, bacille de Friedländer, bacille de l'ozène, bacille lactique aérogène, etc). L'expérience doit être conduite en prenant une quantité fixe de chaque antigène et d'alexine et une quantité fixe de sérum dilué à des taux variables : $1/10$, $1/20$, $1/40$, $1/80$; on détermine ainsi la dose minima active de ces sérums que l'on doit ajouter à l'antigène spécifique pour les réactions diagnostiques.

Étant donné la similitude des caractères cultureux des divers bacilles muqueux, hôtes habituels des sécrétions pathologiques, il convient de s'assurer, tout d'abord, que les cultures inoculées au lapin en vue de l'hyperimmuniser sont rigoureusement pures.

Les résultats de nos expériences nous autorisent à conclure que :

1° En règle générale, le sérum des malades rhinoscléromateux contient des anticorps qui fixent le complément en présence des bacilles de Frisch.

2° Le sérum des animaux immunisés avec une culture pure de bacilles de Frisch, de bacilles de Friedländer, de bacilles lactiques aérogènes, respectivement, renferment des sensibilisatrices spécifiques pour l'antigène-employé.

3° La réaction de fixation du complément apparaît comme une méthode diagnostique sûre, qui permet soit de confirmer les cas cliniques nets de rhinosclérome, soit de dépister la maladie à son début, ou dans ses formes latentes et atypiques.

B. — RÉACTION D'AGGLUTINATION.

C'est Porgès qui, le premier, a réussi à obtenir une émulsion agglutinable de bactéries encapsulées en dissolvant au préalable leur capsule par des moyens chimiques. Toutefois la méthode de Porgès, entraînant une forte dénaturation des bactéries, a été peu utilisée.

Beham est parvenu à isoler, de la partie supérieure des tubes de géloseensemencés, des bacilles de Frisch dépourvus de la capsule muqueuse qui les entoure habituellement; mais, au bout de deux à trois jours, les bacilles « nus », en se développant à l'étuve, reprenaient leurs caractères muqueux. D'autres auteurs ont également obtenu des formes « nues » de bacilles de Frisch en cultivant ce microbe sur pomme de terre (Streit, Meisel et Mikulazek) ou en ensemencant des formes muqueuses sur du sérum homologue anti-S (Avery, Small et Julianelle).

Le procédé qui nous a donné les meilleurs résultats pour isoler les bacilles non muqueux, facilement agglutinables, est le suivant :

1° On ensemence des cultures muqueuses sur des boîtes de Pétri, qu'on laisse ensuite à l'étuve pendant deux ou trois heures, puis à la température du laboratoire.

2° On examine au microscope des fragments de la géloseensemencée et, lorsqu'on trouve des colonies non muqueuses, on les transplante selon la *méthode d'Orskow* : on visse sur le revolver du microscope l'objectif pourvu d'une aiguille de machine à coudre fixée verticalement à l'aide de plastidine. On dépose une goutte d'encre sur la gélose découpée de la boîte de Pétri et on place exactement la pointe de l'aiguille au-dessus de la tache, ce que l'on vérifie à l'aide de l'objectif. En abaissant jusqu'au contact de la gélose l'aiguille préalablement flambée, celle-ci laisse une trace nette sur la tache d'encre. Sachant exactement en quel point du champ a pénétré l'aiguille, grâce à l'emploi du micro-oculaire à réseau quadrillé, on peut y atteindre n'importe quelle colonie. On touche ensuite, avec la pointe de l'aiguille, l'anse de platine avec laquelle on a prélevé une gouttelette de bouillon et on étale cette goutte à la surface d'une boîte de Pétri.

Étuve pendant vingt-quatre heures. La culture pure du type R, qui se développe sur la gélose, rappelle, avec ses petites colonies mates et bleutées, une culture de bacilles paratyphiques.

LES AGGLUTININES DANS LE SÉRUM DES MALADES SCLÉROMATEUX. — La recherche des agglutinines dans le sérum des malades scléromateux s'effectue en ajoutant une émulsion de bacilles de Frisch du type R dans les sérums suspects dilués au 1/200, 1/400, 1/800 et 1/1600. On laisse les tubes à l'étuve pendant trois ou quatre heures, puis au laboratoire, et on lit les résultats le lendemain. Dans les cas positifs, le liquide primitivement trouble se clarifie, pendant que se forme un dépôt que l'on dissocie facilement par agitation.

La réaction d'agglutination, positive avec les dilutions au 1/50 et au 1/100, n'est pas démonstrative, car la forme non encapsulée du bacille de Frisch s'agglutine très souvent en présence de sérum normal dilué à ces taux. Les résultats ne peuvent être considérés comme vraiment positifs que si les sérums suspects manifestent des propriétés agglutinantes à partir de la dilution au 1/200.

Cette réserve faite, nos expériences ont démontré que la réaction d'agglutination coïncide presque toujours avec la réaction de fixation du complément. Au même titre que celle-ci elle constitue donc une excellente méthode de diagnostic sérologique du rhinosclérome.

PROPRIÉTÉS AGGLUTINANTES DU SÉRUM DES ANIMAUX HYPERIMMUNISÉS. — Lorsqu'on inocule à plusieurs reprises, au cheval ou au lapin, par la voie veineuse, des cultures muqueuses ou des cultures du type R du bacille scléromateux ou d'autres bacilles du même groupe, il se forme, dans leur sang, des anticorps qui agglutinent d'une manière spécifique les formes non muqueuses de ce microbe. L'isolement méthodique des formes R, non muqueuses, de toute une série de cultures muqueuses des diverses espèces encapsulées nous a ainsi permis d'étudier la classification des microbes de ce groupe par la réaction d'agglutination et de confirmer les résultats obtenus par l'absorption des agglutinines selon la méthode de Castellani.

TABLEAU I.

RÉACTION d'agglutination (après saturation) avec cultures non muqueuses	SÉRUM ANTI-FRISCH SATURÉ par des cultures de				SÉRUM ANTI-FRIEDLAENDER SATURÉ par des cultures de				SÉRUM ANTI-AÉROGÈNE SATURÉ par des cultures de			
	Frisch		Friedländer		Aérogène		Frisch		Friedländer		Aérogène	
	1	18 30	38	39	1	18 30	38	39	1	18 30	38	39
Frisch 1. . .	—	—	3 200	3 200	—	—	—	—	—	—	—	—
— 18 . . .	—	—	3 200	3 200	—	—	—	—	—	—	—	—
— 30 . . .	—	—	3 200	3 200	—	—	—	—	—	—	—	—
Friedländer 38. . .	—	—	—	—	3 200	3 200	3 200	3 200	3 200	3 200	3 200	3 200
— 39 . . .	—	—	—	—	3 200	3 200	3 200	3 200	3 200	3 200	3 200	3 200
Aérogène 3. . .	—	—	—	—	—	—	—	—	3 200	3 200	3 200	3 200
— 28 . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	3 200	3 200	3 200	3 200

On ensemence une anse de culture non muqueuse sur de la gélose neutre contenue dans des boîtes de Pétri, on laisse à l'étuve pendant vingt-quatre heures, puis on émulsionne la culture de chaque boîte de Pétri dans 5 cent. cubes d'eau physiologique, et on ajoute à cette émulsion 3 cent. cubes de sérum correspondant. On laisse le mélange à l'étuve pendant quatre heures, puis à la température du laboratoire jusqu'au lendemain. On centrifuge pendant une heure et demie et on effectue les réactions d'agglutination croisées avec le liquide transparent décanté (tableau I).

Les résultats obtenus prouvent que les trois représentants étudiés du groupe des bactéries encapsulées : bacille du rhinosclérome de Frisch, bacille de Friedländer et bacille lactique aérogène appartiennent à trois espèces sérologiques distinctes que nous désignerons sous le nom de types sérologiques 1, 2 et 3.

En ce qui concerne la signification de l'agglutination, nos expériences nous autorisent à formuler les conclusions suivantes :

Le sérum des animaux hyperimmunisés par l'inoculation répétée de cultures pures de formes muqueuses et non muqueuses (R et S) de bacilles de Frisch et des autres microbes du même groupe contient des anticorps qui agglutinent à un titre élevé les cultures non muqueuses des microbes homologues et, à un degré beaucoup plus faible, celles des microbes hétérologues. Les cultures muqueuses ne sont pas agglutinées.

La réaction d'agglutination permet de déterminer l'espèce des bactéries encapsulées, soit par la méthode directe (forme R du microbe avec sérum standardisé), soit par la méthode indirecte (sérum des animaux hyperimmunisés avec un microbe donné et culture standardisée de la forme R).

La réaction d'agglutination démontre l'indépendance sérologique du bacille du rhinosclérome, du bacille de Friedländer et du bacille lactique aérogène et l'identité des différentes souches de chacun de ces bacilles dans les limites de leur espèce.

PROPRIÉTÉS PRÉVENTIVES ET CURATIVES DU SÉRUM
DES ANIMAUX HYPERIMMUNISÉS.

En vue d'étudier les propriétés bactéricides du sérum des animaux hyperimmunisés, nous avons préparé un cheval en lui inoculant, par la voie sous-cutanée, une émulsion de plusieurs souches de bacilles de Frisch cultivées sur gélose et des agressines de ce même microbe. Le cheval a mal supporté ce traitement, réagissant à chaque injection par une fièvre élevée et des œdèmes.

Sur 6 souris qui avaient reçu 0,50 cent. cube du sérum ainsi préparé, vingt-quatre heures avant l'inoculation intra-péritonéale d'une dose mortelle (une anse de culture) de bacilles du sclérome, 3 ont survécu. Sur 12 autres auxquelles on avait inoculé simultanément les mêmes doses de sérum et de bacilles, 10 ont succombé.

DÉTERMINATION DES BACILLES SCLÉROMATEUX
ET DES AUTRES ESPÈCES ENCAPSULÉES PAR LA STRUCTURE
DE LEURS JEUNES COLONIES.

Le soi-disant bacille du rhinosclérome, découvert en 1882 par Frisch, a été étudié ultérieurement par Cornil, Alvarez, Babès, Paltauf, Wolkovitch et d'autres auteurs. C'est un bacille court, à extrémités arrondies, long de 2 à 3 μ , large de 0 μ 5 à 1 μ , souvent disposé par paires comme le diplo-bacille de Friedländer. Il est entouré d'une large capsule muqueuse, ovale ou ronde, que l'on voit facilement sur les préparations à l'encre de Chine, ou fixées au sublimé et colorées par la fuchsine diluée.

Le bacille de Frisch est Gram-négatif; il ne diffère pas, sur les préparations colorées, des autres bacilles du même groupe.

On peut étudier facilement les caractères de ses cultures, en examinant, sous le microscope, les colonies qui se sont développées sur la gélose coulée en boîtes de Pétri.

Contrairement aux méthodes habituelles, nous avons examiné les jeunes colonies de bacilles encapsulés *avant qu'elles*

ne soient visibles à l'œil nu, car il nous a paru que l'aspect bombé, en coupole, des colonies mûres et la présence de mucus ne permettaient pas d'en faire une étude approfondie.

Nous avons opéré de la manière suivante :

On étale une goutte de culture en bouillon datant de vingt-quatre heures à la surface de la gélose d'une boîte de Pétri et on laisse à l'étuve pendant trois heures, puis, jusqu'au lendemain, à la température du laboratoire. Avec un bistouri flambé, on prélève un fragment de 1 centimètre sur 2 ou 3 de cette gélose, on l'étale sur une lame et on l'examine au microscope avec une source lumineuse puissante (50 à 100 bougies).

On voit alors une série de petites colonies composées de 10 à 30 éléments bactériens au début de leur développement. L'examen de près de 150 cultures nous a permis de distinguer les types suivants de ces jeunes colonies encapsulées :

Type I : CONCENTRIQUE. — En étudiant un grand nombre de cultures de *bacilles de Frisch* isolés des mucosités de malades scléromateux, nous avons constaté que les jeunes colonies se composent d'un conglomérat de bacilles et de diplo-bacilles en couches stratifiées, concentriques, disposés à des intervalles presque réguliers, grâce à l'uniformité de leur capsule muqueuse. Les jeunes colonies sont tout à fait plates et les bactéries qu'elles renferment apparaissent très nettement.

Les colonies plus âgées ont une forme en coupole, par suite de l'accumulation des germes et du mucus ; néanmoins, elles peuvent être reconnues d'après l'aspect de leurs bords, car elles sont toujours entourées de quelques cercles concentriques de bacilles droits.

Type II : DIFFUS. — Les jeunes colonies du *bacille de l'ozène* d'Abel, que l'on isole parfois dans la rhinite atrophique fétide, sont également concentriques, mais les germes, ayant une capsule muqueuse plus épaisse, sont plus clairsemés que le bacille de Frisch et séparés les uns des autres par de plus grands intervalles.

Type III : EN ANSE OU EN MAILLES FESTONNÉES. — Ce sont les jeunes colonies du *bacille de Friedländer* qui offrent, le plus souvent, cet aspect. Elles se composent d'un petit réseau de microbes entrelacés qui, à la périphérie, contournent leurs bords en formant une espèce de maille. L'image obtenue

rappelle celle d'une empreinte de colonie de bacilles de la peste. Les bactéries de ce type sont séparées par une masse muqueuse plus importante que celle qui sépare les bacilles du sclérome, le *B. capsulatus* et le bacille lactique aérogène.

Comme pour le bacille de Friedländer, l'abondance du mucus se manifeste par l'étirement des colonies adultes en longs filaments.

Type IV : EN TERRASSE. — Les jeunes colonies du *bacille lactique aérogène* sont formées par des diplobacilles, ordinairement disposés en terrasse, avec un centre plus obscur (objectif 3) et un bord plat, entouré de rangs épais de bacilles disposés en éventail (objectif 7).

Type V : ÉTOILÉ. — On trouve cette forme de jeunes colonies dans les cultures de notre *B. mucosus non fermentans alcaligenes*, identique, en apparence, au *B. mucosus capsulatus* de Tasching. D'ordinaire, du centre de la colonie émergent des rangs de bacilles qui divergent en étoile.

Type VI : RADIE CONCENTRIQUEMENT. — Le centre de la colonie est constitué par des rangées rayonnantes de bactéries; à la périphérie, celles-ci ont une disposition concentrique. On observe cette structure dans les colonies d'une variété de *B. mucosus vulgaris*, saprophyte fréquent des mucosités du nez et du pharynx.

Type VII : SARCINE, MUQUEUX. — Les colonies rondes et plates sont constituées par de petits groupes de sarcines incluses dans une masse muqueuse, épaisse, offrant une structure granuleuse, caractéristique, à un faible grossissement.

D'après leurs caractères sérologiques, 34 souches de notre nouvelle collection appartiennent au bacille de Frisch. Sur ce nombre, 33 ont donné des jeunes colonies à structure concentrique typique; une seule avait une structure en anse; 9 cultures sur 9 du bacille lactique aérogène ont donné des colonies typiques en terrasse; 12 cultures sur 12 des bacilles de Friedländer et d'Abel ont donné des colonies du type III et du type II respectivement.

Quelques cultures que nous étudierons ultérieurement ont donné des jeunes colonies mixtes.

Cette méthode d'examen des jeunes colonies, facile et rapide, permet donc de déterminer toutes les espèces de bactéries

encapsulées. Concurrément avec les réactions sérologiques de fixation du complément et d'agglutination, elle peut rendre de grands services au moins en tant qu'épreuve préliminaire pour le diagnostic du rhinosclérome.

DIFFÉRENCIATION DU BACILLE DE FRISCH
ET DES AUTRES BACTÉRIES MUQUEUSES, ENCAPSULÉES,
D'APRÈS L'ACTION DE LA BILE DE BŒUF.

En étudiant l'action de diverses substances organiques sur les bacilles encapsulés, muqueux, nous avons constaté que le bacille de Frisch se distingue par sa sensibilité à la bile, dans laquelle tous les autres représentants du même groupe se développent plus ou moins abondamment.

Pour mettre ce phénomène en évidence, on ensemence une anse de platine de la culture sur gélose du microbe étudié dans un flacon contenant 20 à 30 cent. cubes de bile de bœuf stérile, qu'on laisse ensuite à l'étuve pendant quatre jours. Toutes les vingt-quatre heures, on fait un réensemencement sur gélose coulée en boîtes de Pétri. Etuve vingt-quatre heures.

Aucune de nos souches de bacilles de Frisch n'a résisté à l'action de la bile de bœuf, tandis que 12 souches des bacilles de Friedländer et d'Abel, 9 souches du bacille d'Escherich, la sarcine muqueuse et le bacille muqueux non fermentant et 12 souches du bacille muqueux vulgaire se sont parfaitement conservées dans ce milieu.

On peut simplifier la méthode précédente en ensemençant les cultures sur de la gélose à la bile (bile + gélose à 4 p. 100 en parties égales) coulée dans des boîtes de Pétri qu'on laisse à l'étuve pendant vingt-quatre heures.

ACTION DES BACILLES MUQUEUX ENCAPSULÉS
SUR LES HYDRATES DE CARBONE, LES ALCOOLS,
DIVERS SELS ORGANIQUES ET DIVERS GLUCOSIDES.

En vue d'étudier l'action fermentative des bacilles muqueux encapsulés, nous avons employé un bouillon à l'extrait de viande de Liebig à 1 p. 100, additionné de 1 p. 100 de peptone de Witte et de 0,5 p. 100 de chlorure de sodium, pH 7,5. Après

filtration, on ajoute, par litre de milieu, 12 cent. cubes de la solution aqueuse de bleu de bromothymol à 2 p. 100 et on stérilise à l'autoclave. On ajoute ensuite par litre 5 grammes du sucre étudié, on répartit stérilement le bouillon sucré dans des tubes où l'on introduit des petits tubes flotteurs; on bouche les tubes avec de l'ouate dont la partie inférieure est imprégnée d'un mélange de paraffine et de vaseline (1 partie de paraffine et 9 parties de vaseline) stérilisé à 200°. On les porte ensuite pendant dix minutes au bain-marie ou dans la vapeur fluente, puis on les refroidit rapidement par immersion dans

TABLEAU II.

CULTURES	SUCRE	ACIDE	GAZ
26 souches	Gl, Le, Ga, Ma, Sa, Mt, Ra, St, De, Ar, Rh, Mt, St, Sal.	+	—
26 souches	Er, Du, In, Mc et Lac.	—	—
24 souches	Glc.	+	—
2 souches	Glc.	—	—
23 souches	Xyl.	+	—
1 souche	Xyl.	—	—
23 souches	Sor.	+	—
3 souches	Sor.	—	—
25 souches	Ad.	+	—
1 souche	Ad.	—	—
7 souches	Amygdaline.	—	—
26 souches		—	—

l'eau et on les laisse à l'étuve pendant vingt-quatre heures pour s'assurer de leur stérilité. Le bouillon ainsi préparé se conserve longtemps sans s'altérer (M. Kristensen).

Au moyen d'une pipette stérile, on introduit dans chaque tube de bouillon sucré une goutte de culture en bouillon, âgée de vingt-quatre heures, du microbe étudié. On porte à l'étuve et on examine les résultats chaque jour. La production d'acide se manifeste par le virage de la couleur verte du milieu (—) en jaune verdâtre (\pm) ou en jaune intense (+).

Nos essais ont porté sur les substances suivantes, chimiquement pures :

d, glucose (Gl); d, lévulose (Le); d, galactose (Ga); d, mannose (Mn); saccharose (Sa); lactose (Lac); maltose (Ma); raffinose (Ra); dextrine (De); inuline (In); amidon (St); glycérine (Gln); érythrite (Er); xylose (X); arabinose (Ar); rhamnose

(Rh); dulcité (Du); mannite (Mt); sorbite (So); adonite (Ad); inosite (It); mélécitose (Mc); salicine (Sal), et des sels organiques : citrate de soude (C), tartrate de soude (I. T) et le mucinate de soude (M). Voici les résultats que nous avons obtenus pour le bacille de Frisch (tableau II).

Ainsi le bacille de Frisch ne décompose pas le lactose, mais il attaque tous les autres sucres en produisant des acides sans gaz; il n'exerce aucune action sur l'érythrite, la dulcité, l'inuline et le mélécitose.

Quant aux autres bacilles encapsulés, leurs principaux

TABLEAU III.

CULTURES	LACTOSE		GLUCOSE		SACCHAROSE	
	Acide	Gaz	Acide	Gaz	Acide	Gaz
Bacille de Frisch.	—	—	+	—	+	—
Bacilles de Friedländer et d'Abel.	+	—	+	—	+	—
Bacille lactique aérogène.	+	+	+	+	+	+
<i>Bac. mucosus non fermentans</i>	+	—	—	—	—	—
<i>Bac. mucosus vulgaris</i>	—	—	+	—	—	—
Sarcine muqueuse	+	—	+	—	+	—

caractères fermentatifs sont résumés dans le tableau III.

On peut constater, à la lecture de ce tableau, que les propriétés fermentatives des bacilles muqueux progressent dans l'ordre suivant :

Bacille non fermentant ;

Bacille muqueux vulgaire, qui forme de l'acide avec le glucose ;

Bacille de Frisch, qui forme de l'acide en deux ou trois jours avec le glucose et le saccharose ;

Diplobacille de Friedländer, bacille d'Abel et sarcine muqueuse qui forme de l'acide avec le glucose, le saccharose et le lactose.

Bacille aérogène A, qui forme de l'acide et des gaz avec le glucose et le saccharose ;

Bacille lactique aérogène, qui forme de l'acide et des gaz avec le lactose, le glucose et le saccharose.

PRODUCTION D'INDOL PAR LE BACILLE DE FRISCH. — Des essais effectués en traitant par le réactif d'Ehrlich-Bœhme des cultures de bacilles de Frisch dans le bouillon de M. Kristensen nous ont permis de vérifier que ce microbe ne produit qu'exceptionnellement de l'indol.

DISSOCIATION DES TYPES « R » et « S »
DES BACTÉRIES ENCAPSULÉES.

Chaque espèce du groupe des bactéries muqueuses se rencontre sous deux formes : *muqueuse* et *sèche*. La forme muqueuse S donne des colonies en coupole, confluentes, glissant sur la gélose inclinée; elle n'est pas agglutinable. La forme sèche « R » donne des colonies plus petites, isolées, rondes et plates, mates, à reflets bleuâtres; les bacilles de ce type sont facilement agglutinables.

A l'examen microscopique d'une jeune colonie du type « S », on observe des amas bactériens caractéristiques pour chaque espèce, entourés d'une capsule muqueuse. Les jeunes colonies du type R, au contraire, sont constituées par des agglomérations bacillaires épaisses, de formes très diverses, non caractéristiques pour chaque espèce.

C'est dans les cultures muqueuses du bacille scléromateux, surtout pendant les mois d'été, lorsque ces cultures sont repiquées à des intervalles espacés, que la forme se développe le plus activement. Les bacilles de ce type se distinguent par leur aptitude à végéter sur un milieu pauvre en azote, l'absence de culture sur pomme de terre après un court séjour dans la bile et leur culture dans le sérum homologue. Le bacille lactique aérogène perd aussi facilement sa capsule muqueuse; par contre la forme R du pneumo-bacille de la pneumonie est plus rarement obtenue dans les mêmes conditions.

Depuis 1927, nous n'avons jamais constaté la transformation des bacilles du type R en type S. Les cultures des organes des souris blanches, inoculées avec le type R, sont également restées toujours indemnes de colonies du type S, ce qui témoigne de la stabilité du type R.

Malgré leur fixité apparente, nous avons cependant observé, dans deux cas, la variabilité des bactéries encapsulées sous la

forme d'une modification de leurs caractères de culture ou d'une modification de leurs caractères sérologiques. En outre, des saprophytes muqueux des cavités nasales et pharyngiennes ont acquis spontanément dans une de nos expériences les propriétés caractéristiques des bacilles muqueux pathogènes. Voici deux exemples de cette variabilité :

Culture n° 3. — Isolée du mucus nasal d'un malade rhinoscléromateux. A la surface de la gélose inclinée, on observe une couche muqueuse brillante. En bouillon, trouble uniforme ; à la surface, anneau muqueux. La gélatine n'est pas liquéfiée. Pas de production d'hémolysine. Sur le milieu d'Endo, culture blanc rosâtre avec liséré qui va en s'amincissant. Sur le milieu de Drigalsky, culture muqueuse bleue. Sur bile, pas de développement au bout de vingt-quatre heures et de quarante-huit heures.

La réaction de fixation du complément de cette culture avec le sérum antisccléromateux a donné un résultat très positif. Les caractères de fermentation de la culture muqueuse S et de la culture non muqueuse R ont été les suivants :

TABLEAU IV.

SUCRES	FERMENTATION			
	Culture S		Culture R	
	Acide	Gaz	Acide	Gaz
Lactose, Erythrite, Amygdaline, Inuline, Dulcité, Melécitose	—	+	—	—
Glucose, Galactose, Raffinose, Mannite, Xylose, Saccharose, etc.	+	—	+	—

D'après ces données et la structure concentrique, typique, des jeunes colonies, la culture n° 3 correspondrait à celle du bacille du rhinosclérome. La forme agglutinée jusqu'au titre limite par le sérum antisccléromateux a été également rapportée à la forme R du bacille de Frisch.

La culture non muqueuse a été réensemencée toutes les deux ou trois semaines ; au bout de quelques mois elle a cessé d'être

agglutinée par le sérum du type I et elle a acquis les propriétés sérologiques du bacille lactique aérogène. Cette identité a été confirmée par l'épreuve de la saturation des agglutinines selon la méthode de Castellani.

Chez une malade rhinoscléromateuse, M^{me} A. L..., dont le sérum avait donné une réaction de fixation du complément et une réaction d'agglutination positives avec les formes S et R

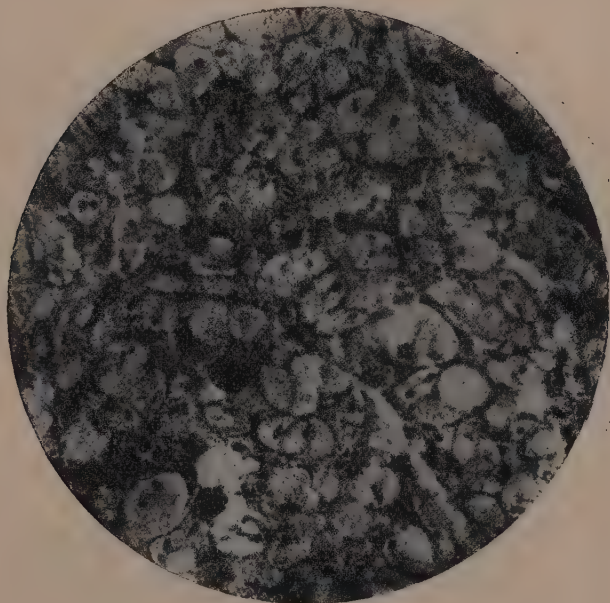


FIG. 1.

du bacille de Frisch, nous avons isolé, du mucus nasal, une souche produisant sur la gélose une culture muqueuse, nacrée, se développant sur la bile, fermentant le lactose, le glucose et le saccharose avec production d'acide mais sans gaz et donnant des jeunes colonies en anse typiques. Ces caractères correspondent à ceux du diplo-bacille de Friedländer et non à ceux du bacille de Frisch. Cependant cette souche présentait des propriétés sérologiques typiques du bacille de Frisch ; réaction de Bordet-Wassermann très positive avec le sérum du type I. Le sérum obtenu chez le lapin immunisé par la culture en

TABLEAU V.

CULTURES	CARACTÈRES des jeunes colonies	CROISSANCE sur bile	FERMENTATION						TYPE SÉROLOGIQUE de la culture selon le sérum immunisé standardisé
			Lactose		Glucose		Saccharose		
			Acide	Gaz	Acide	Gaz	Acide	Gaz	
Bacille de Frisch.	Concentriques.	—	—	—	—	—	—	—	II
Bacille de Friedländer.	En anses.	+	+	+	+	+	+	+	
Bacille d'Abel	Diffuses.	+	+	—	+	—	+	—	
<i>Bac. gasiformans.</i>	En terrasse.	+	+	+	+	+	+	+	III
<i>Bac. muc. vulgaris</i>	Radiées concentrig.	+	—	—	+	—	—	—	IV
<i>Bac. muc. alcalig.</i>	Etoilées.	+	—	—	—	—	—	—	
<i>Sarcina mucosa</i>	Sarcines.	+	+	—	+	—	+	—	
									Ne réagit avec aucun type.

question n'agglutinait également que la forme R du type sérologique L.

L'hypothèse qui se présente à l'esprit est qu'un bacille encapsulé saprophyte a acquis, grâce au séjour dans les cavités nasales de cette malade, les caractères sérologiques des bactéries scléromateuses du type I.

Nous avons essayé de modifier artificiellement les caractères

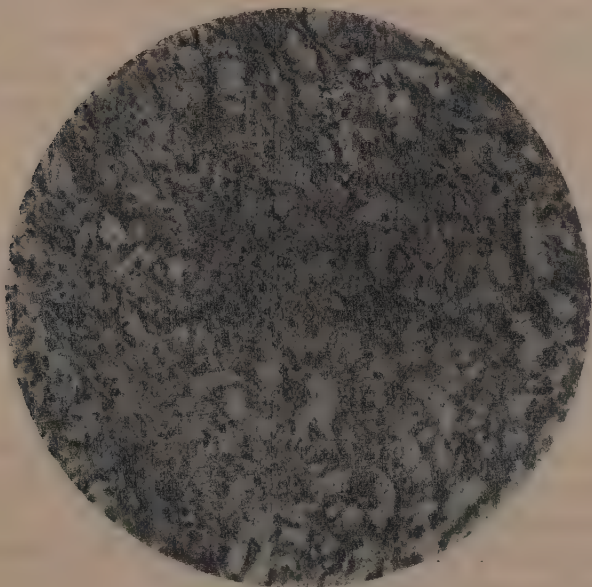


FIG. 2.

cultureux et sérologiques des microbes encapsulés en les cultivant sur des sérums homologues et hétérologues. Nos essais ont porté sur deux souches de *bacilles scléromateux* (NN3 et 6), de *bacilles de Friedländer* (NN40 et 50), de *bacilles lactiques aérogènes* (NN7 et 46) et de *bacilles du groupe « O »* (N74 : *Bac. mucosus non fermentans* et N69 : *Bac. mucosus vulgaris communis*). Chaque souche a été ensemencée sur trois sérums hétérologues et sur un sérum homologue (10 p. 100 de sérum correspondant dans du bouillon de viande peptoné), puis réensemencée, quatre jours après, sur des boîtes de Pétri. Les cul-

tures ainsi obtenues ont été ensuite éprouvées par la réaction de fixation du complément avec les sérums homologues et hétérologues aux doses optima, en même temps que les souches originelles correspondantes.

La culture n° 6 et ses trois souches dérivées ont donné une réaction très positive avec le sérum homologue du type I (bacille de Frisch), une réaction négative avec le type II (bacille de Friedländer) et une réaction très faible avec le type III (bacille lactique aérogène). Une seule souche a donné un résultat positif avec le sérum du type O (*Bac. mucosus non fermentans* et *B. mucosus vulgaris* v. *communis*). Toutes les autres souches dérivées de la culture n'ont fixé le complément qu'en présence des sérums homologues.

D'une manière générale, on peut dire que des bacilles muqueux conservent leurs propriétés antigènes caractéristiques même lorsqu'ils ont été cultivés dans du sérum homologue ou dans des sérums hétérologues. Certaines d'entre elles peuvent réagir d'une façon positive avec les sérums du type O.

RÔLE ÉTIOLOGIQUE ET VIRULENCE DU BACILLE DE FRISCH.

Les arguments cités par Tomasek, Quast et plusieurs autres auteurs en faveur du rôle étiologique du bacille de Frisch dans le rhinosclérome se résument ainsi :

1° Constatation du bacille de Frisch dans les mucosités et les tissus des malades scléromateux;

2° Résultats positifs des réactions d'immunité;

3° Infection expérimentale.

Le dernier argument est sans valeur, car aucun expérimentateur n'a obtenu, par inoculation du bacille de Frisch aux animaux de laboratoire, des altérations pathologiques démonstratives.

Les résultats positifs signalés par A. Sercer et A. Kraus paraissent tenir à ce que ces auteurs ont inoculé, avec le tissu scléromateux, un autre virus encore inconnu.

Notre collaborateur, le Dr Tatarentchik, qui a étudié sur notre demande le sclérome expérimental chez le lapin, le cobaye, le rat et la souris blanche, a observé dans un cas, au milieu des éléments d'infiltration inflammatoire, l'appar-

rition des cellules décrites habituellement comme cellules de Mikulicz.

Les infiltrats obtenus, dit Tatarentchik, ne fournissent pour le moment, aucune preuve en faveur d'un vrai sclérome expérimental, car tous leurs éléments constitutifs ne sont pas spécifiques, c'est-à-dire propres seulement au sclérome. Nous avons inoculé au singe hamadryas, dans une petite cavité

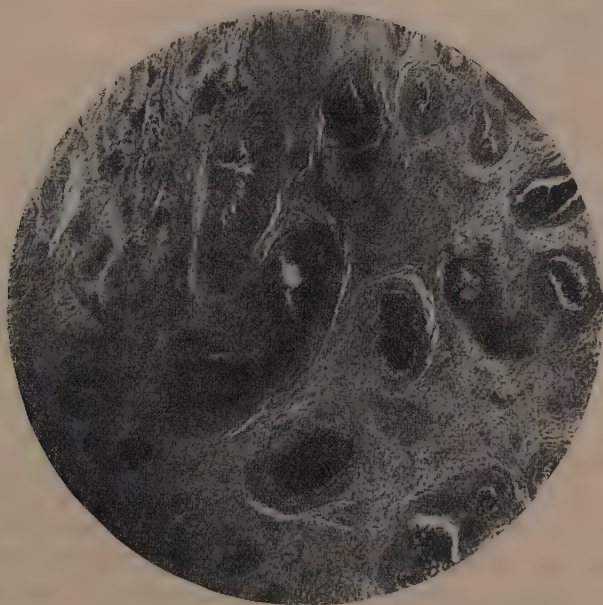


FIG. 3.

creusée dans la muqueuse du nez et de la gencive, une culture fraîchement isolée d'un malade rhinoscléromateux et un petit morceau de tissu de granulome scléromateux qui venait d'être extirpé. L'examen, pratiqué au bout de quelques mois, du tissu prélevé à l'endroit même de l'ancienne inoculation n'a décelé aucun élément rappelant les cellules du granulome scléromateux humain. Nous donnons ci-dessus trois micro-photographies montrant : figure 1, une préparation histologique de granulome scléromateux d'un homme malade ; figure 2, une préparation de la peau d'un lapin qui avait été inoculé avec

une culture du bacille de Frisch et, figure 3, une préparation de la muqueuse nasale du singe inoculé.

Les bacilles encapsulés, inoculés par la voie péritonéale, à la dose de 250 millions de germes au minimum, tuent la souris blanche en une à trente-six heures. Dès la première heure après l'inoculation, les bactéries peuvent être décelées dans tous les tissus.

Les cultures du type R du bacille de Frisch, inoculées par la même voie, à la dose de 250 millions de germes, se montrent moins pathogènes.

Bien que le rôle étiologique du bacille de Frisch ne soit pas encore complètement élucidé, on peut supposer que, dans certaines conditions qui nous échappent, la muqueuse des voies respiratoires supérieures devient favorable au développement prédominant de ce germe parmi les autres microbes de la flore locale. L'exemple que nous avons cité précédemment démontre que des bacilles encapsulés saprophytes peuvent, en effet, acquérir les propriétés caractéristiques du bacille scléromateux.

DIAGNOSTIC DE LABORATOIRE DU RHINOSCLÉROME.

Le diagnostic bactériologique du rhinosclérome repose sur la découverte des bacilles de Frisch dans le matériel examiné. Les bacilles peuvent être observés dans les mucosités du nez, du pharynx ou du larynx, ou dans la profondeur des infiltrations scléromateuses. Le sang ne paraît pas en contenir. Dans la pratique, on prélève un peu de mucus à l'aide d'une anse et on l'étale sur une ou deux boîtes de Pétri contenant de la gélose faiblement alcaline. Etuve pendant vingt-quatre heures. Ordinairement, on obtient ainsi un grand nombre de colonies, principalement de la forme muqueuse S du bacille de Frisch. Ces colonies muqueuses sont rondes, en coupole brillante, de teinte nacrée, opaques au centre, légèrement transparentes à la périphérie. Grâce à la confluence de plusieurs d'entre elles, il se produit des colonies ovales et piriformes. Les colonies R sont petites, bleuâtres.

Les colonies muqueuses, réensemencées sur la gélose en boîte de Pétri ou inclinée, donnent une culture brillante continue. L'eau de condensation se trouble et un précipité muqueux

épais se dépose. Au bout de une à trois semaines, la culture glisse presque entièrement au fond du tube.

Le bouillon présente un trouble homogène et se recouvre

**Fiche individuelle de malade
atteint de rhinosclérome.**

NUMÉRO
d'ordre

Nom, prénoms

Age

Sexe

Lieu de naissance

Lieu d'habitation

Durée de la maladie

Diagnostic clinique

Etablissement médical

Réaction d'agglutination

Réaction de fixation du complément

Bactéries isolées à l'ensemencement

Propriétés de la culture muqueuse n°

Croissance sur gélose

Agar-microscopie

Croissance sur bile

Bouillon lactosé. . . Acide Gaz

Bouillon glucosé . . . Acide Gaz

Bouillon saccharosé. Acide Gaz

Indol

Propriétés antigènes de la culture : 1 2 3 « 0 »

Réaction d'agglutination

Réaction de fixation du complément

Type sérologique de la culture :

Réaction d'agglutination

Réaction de fixation du complément

Résultat :

souvent d'une membrane muqueuse qui tombe par agitation en laissant un anneau. Culture en forme de clou dans la gélatine ensemencée par piqûre; le milieu n'est pas liquéfié. Sur le

milieu d'Endo, culture abondante rose blanchâtre; sur le milieu de Drigalsky, culture blanc bleuâtre; sur le milieu au vert malachite, colonies pauvres, verdâtres.

On étudiera la fermentation[†] au moyen de trois milieux liquides additionnés respectivement de lactose (absence d'acide et de gaz, durant les cinq jours d'observation), de glucose (acide en vingt-quatre heures sans gaz), de saccharose (acide à partir du troisième jour seulement). On fera ensuite l'épreuve de la bile, dans laquelle le bacille de Frisch ne se développe pas, et la réaction de l'indol avec le réactif d'Ehrlich-Boehme, qui est toujours négative pour le bacille de Frisch. On s'assurera de la pureté des cultures et on examinera les colonies jeunes comme nous l'avons précédemment indiqué.

Le diagnostic *sérologique* se fait par la réaction d'agglutination avec la forme R d'une souche bien agglutinable de bacille de Frisch et du sérum de lapin hyperimmunisé, dilué à 1 p. 200-1 p. 1.600. La réaction de fixation du complément se pratique avec le sérum inactivé, dilué à 1 : 5. Dans les laboratoires bactériologiques de la Russie blanche, les résultats obtenus sont notés sur une fiche individuelle (voir page 569).

SUR LE RÔLE DU SYSTÈME NERVEUX DANS LE PROCESSUS INFLAMMATOIRE

par le Dr A. D. SPERANSKY.

(Institut de médecine expérimentale. Leningrad.)

A. — INFLAMMATION AIGUE.

Le rôle du système nerveux dans les processus inflammatoires aigus n'a pu être exactement déterminé en raison de la difficulté d'obtenir, dans l'organisme vivant, des tissus réellement privés d'éléments nerveux et soustraits aux influences nerveuses. En outre, les effets des réactions produites sur chaque cellule vivante par des causes directes d'irritation gênent l'observation, car il est impossible d'évaluer l'ampleur et la portée de ces réactions autonomes avec nos méthodes actuelles de recherches.

Spiess, en 1906, constata que les substances anesthésiques atténuent ou arrêtent les processus inflammatoires aigus dans les foyers où elles sont appliquées, et qu'elles peuvent même exercer une action préventive. Il admet que le facteur principal de la réaction inflammatoire réside dans l'impulsion réflexe, antérieure à l'inflammation, qu'il désigne sous le nom de « douleur primaire ». La suppression de cette douleur primaire modifie tous les caractères de la réaction ultérieure. D'après Laguer et Magnus (1924), la section préalable des nerfs vagues dans la région cervicale diminue sensiblement ou prévient les altérations pulmonaires qui caractérisent l'action toxique du phosgène. D'autre part, Shiga a montré que le processus inflammatoire se développe dans les tissus « énervés » comme dans les tissus normaux. Par conséquent, les symptômes de l'inflammation traduisent la réponse autonome des tissus à l'agent excitant appliqué directement. Cette opinion est partagée par Lubarche et par d'autres auteurs, mais elle est combattue par G. Ricker qui a démontré, en particulier à

propos de l'épityphlite, que la marche de l'inflammation dans un organisme normal diffère de celle que l'on observe dans les tissus « éternés ».

Nos observations sur la marche de l'inflammation diphtérique de l'oreille éternée du lapin ont confirmé les constatations de Shimura. Elles ont prouvé que la suppuration qui accompagne le processus inflammatoire se produit à peu près de la même manière dans l'oreille indemne et dans l'oreille éternée. Cependant ce fait ne représente pour nous, ni pour Ricker, une démonstration suffisamment concluante de l'indépendance de l'inflammation locale des influences nerveuses chez un sujet normal : diverses étapes du processus inflammatoire local peuvent être autonomes ou liées uniquement aux « axon-réflexes » de Langley, comme l'a montré Broucké.

Au cours de nos recherches, nous avons constaté maintes fois l'influence réciproque de la cellule nerveuse et du foyer local. J'ai exposé récemment (1) nos expériences sur la péritonite aiguë des lapins normaux et des lapins « dévagués » (expériences de M. Bouchmakine et J. Pigalew). Elles nous conduisirent à admettre que la suppression d'une connexion nerveuse (neuro-lymphatique) directe des organes de la cavité abdominale avec le bulbe, non seulement favorise le cours et l'issue de la péritonite, mais encore modifie le développement des symptômes inflammatoires abdominaux. Dans ces conditions, la péritonite généralisée ou diffuse avorte très souvent. Mais cet avortement de l'infection ne dépend pas seulement de la suppression des connexions nerveuses entre les organes abdominaux et le bulbe. Il convient de noter que, depuis les recherches de Muller, les auteurs sont portés à nier la présence de fibrilles centripètes dans le tronc du nerf vague au-dessous du médiastin ; le rameau ascendant de l'arc réflexe des organes abdominaux au cœur (Holtz) serait non pas le nerf vague, mais les voies nerveuses sympathiques.

En nous fondant sur toute une série d'expériences, nous avons été amené à conclure que le bulbe participe directement au processus morbide de la cellule nerveuse par l'intermédiaire du nerf vague. Nous avons, dans la suite, apporté une série de

(1) Ces *Annales*, 43, 1929, pp. 1021 et 1516.

faits confirmant ce point de vue et montré qu'il est possible de résoudre le problème général du rôle du système nerveux dans l'inflammation aiguë. Toutefois nos expériences n'ayant pas donné la solution définitive de ce problème, nous les avons reprises en étudiant le processus même qui se manifeste dans le système nerveux au cours du développement du foyer inflammatoire local. Les organes abdominaux offrent à ce point de vue des conditions favorables, car leurs connexions nerveuses avec le système nerveux central sont différentes.

Ces expériences furent effectuées par mon collaborateur le Dr P. W. Manienkow. Dans une première série d'essais, Manienkow opéra sur des lapins normaux qui, après laparotomie, furent inoculés, exactement dans les mêmes conditions, l'un sous la séreuse de l'estomac, seul organe abdominal où les nerfs vagues forment des troncs séparés et où ils dérivent directement du bulbe, l'autre sous la séreuse du gros intestin. Tous les lapins inoculés dans la paroi stomacale, ne fut-ce qu'avec 1/500 d'une culture de vingt-quatre heures de notre staphylocoque, ont succombé au bout de huit à seize heures. Parmi ceux qui avaient été inoculés dans la paroi du gros intestin, beaucoup ont résisté; les autres ont survécu aux témoins. A l'autopsie, tous les lapins infectés par inoculation intra-stomacale ont présenté des altérations inflammatoires graves non seulement au lieu de l'injection, mais aussi sur toute l'étendue de la paroi, aussi bien dans la musculieuse que dans la muqueuse; on a constaté en outre une péritonite généralisée avec exsudation séro-sanguinolente et l'injection des vaisseaux de tous les organes abdominaux. La suppuration a été rarement observée, car tous les animaux sont morts quelques heures après l'inoculation.

Chez les lapins inoculés dans la paroi du gros intestin, la péritonite généralisée ne s'est produite que d'une manière exceptionnelle. Leur mort doit être attribuée non à la péritonite, mais à la septicémie staphylococcique. La réaction locale était toujours limitée à la région inoculée du gros intestin. Chez les lapins morts deux jours après l'infection, on observait une rougeur en ce point. Ceux qui moururent plus tardivement présentaient des adhérences et un petit abcès du volume d'une tête d'épingle. Les parties voisines paraissaient normales.

Il existe donc une différence très nette dans l'évolution du processus infectieux et l'intensité de la réaction locale dans ces deux groupes d'animaux inoculés.

Marienkow compléta cette expérience en infectant, par inoculation intrastomacale, des lapins préalablement « dévagués ». Pour opérer dans les mêmes conditions, il pratiquait une laparotomie sur un lapin témoin en exerçant des tractions sur l'estomac. Au bout de deux ou trois semaines, il procédait à une seconde laparotomie sur les deux animaux simultanément, et il leur inoculait des doses égales ($1/200$ à $1/500$) d'une culture de vingt-quatre heures de notre staphylocoque, autant que possible en des points correspondants sous la séreuse de l'estomac. Les résultats obtenus furent identiques à ceux des deux précédentes séries : les lapins normaux moururent les premiers, et les lapins dévagués survécurent longtemps aux témoins. Même dans les cas où des lapins « dévagués » succombèrent, on ne constata aucun signe de péritonite généralisée, et leurs lésions locales étaient strictement limitées à la région inoculée. Cependant nous devons noter que les lapins dévagués, inoculés dans l'estomac, sont morts plus rapidement que ceux de la série précédente inoculés dans l'intestin.

Le staphylocoque qui a servi à ces expériences étant spécialement pathogène pour le lapin, on pouvait supposer que, lors de l'inoculation intrastomacale au lapin dévagué, il pénétrait plus vite dans le sang que lorsqu'il était injecté dans la paroi du gros intestin. Pour vérifier cette hypothèse, plusieurs lapins normaux furent laparatomisés en même temps. Les uns reçurent ensuite, dans la paroi de l'estomac, $1/200$ à $1/500$ de culture de vingt-quatre heures de staphylocoque. Chez les autres on attira l'estomac dans la plaie opératoire, puis on le remit en place et on leur inocula, dans la veine auriculaire, la même dose de staphylocoques. Tous les lapins inoculés dans la paroi stomacale ont succombé beaucoup plus rapidement que les lapins inoculés par la voie veineuse. Donc l'infection d'origine stomacale s'est montrée plus sévère que l'infection directe par la voie sanguine.

On peut en inférer que le danger des péritonites en général et des péritonites « supérieures » en particulier ne dépend pas seulement de la rapidité avec laquelle le virus passe de

l'estomac dans le sang. Mais il est difficile d'expliquer pourquoi l'inoculation dans la paroi de l'estomac « dévagué » est plus dangereuse que l'inoculation dans la paroi de l'intestin. Peut-être faut-il tenir compte de la plus ou moins grande proximité du plexus solaire de ces deux organes.

Dans une autre série d'expériences, des quantités égales de virus étaient injectées sous la séreuse des différents organes abdominaux : estomac, gros intestin, intestin grêle, utérus, trompes, vessie, et dans la profondeur du péritoine pariétal ou viscéral. Tantôt le virus (même staphylocoque que précédemment ou staphylocoques moins pathogènes pour le lapin) était inoculé dans différents organes du même lapin, tantôt on n'inoculait qu'un seul organe. Lorsqu'un animal mourait, tous les autres étaient sacrifiés par chloroformisation et on étudiait la réaction locale inflammatoire. Les altérations les plus graves et les plus étendues (œdème, infiltration, hyperémie, hémorragies) ont été observées sur la paroi stomacale. Chez les animaux infectés par inoculation dans la paroi de l'intestin grêle, la réaction inflammatoire locale était beaucoup plus faible et constamment limitée au point de l'injection. Dans la région inférieure du gros intestin, la réaction locale paraissait encore plus atténuée; parfois même on ne réussit pas à retrouver le point de l'inoculation. La réaction locale de la vessie est comparable à celle de l'estomac : œdème diffus, infiltration étendue de la paroi, hyperémie, hémorragies. Il convient de rappeler, en ce qui concerne cet organe, que les ramifications des nerfs cérébro-spinaux se terminent dans son voisinage immédiat, dans les ganglions du plexus vésical.

La réaction locale inflammatoire, consécutive à l'inoculation dans le corps de l'utérus ou dans les trompes, près du corps de l'organe, est très faible. Elle consiste dans une rougeur limitée ou en un point purulent dans la région injectée. L'inoculation dans les trompes détermine des altérations inflammatoires dans le corps de l'utérus, plus intenses et plus diffuses que l'inoculation utérine directe.

Enfin, la réaction inflammatoire provoquée par l'inoculation dans la profondeur du péritoine pariétal est plus marquée et plus étendue que celle qui résulte de l'inoculation dans la profondeur du péritoine viscéral (mésentère).

A. S. Doguèle a démontré que l'on peut observer dans les ganglions intramuraux du système nerveux autonome, deux types de cellules nerveuses distincts. En étudiant les caractères et la direction des rameaux de ces deux types de cellules, il a émis l'hypothèse que celles du premier type sont des cellules motrices du corps. Leurs dendrites reçoivent des excitations du neurone central (neurone du premier ordre); les axones sont en relation avec la musculature lisse. Les cellules du deuxième type peuvent mettre en jeu un réflexe autonome local, propre à l'organe correspondant, car elles sont liées à la muqueuse d'une part et aux cellules du premier type de l'autre.

Les recherches de Lawrentiew ont confirmé l'existence de ces deux types de cellules nerveuses dans les ganglions inclus dans les organes digestifs des mammifères. Il a établi, d'après l'étude d'un matériel considérable (chat, chien, vache, rat, chameau), qu'elles se répartissent irrégulièrement le long du tube digestif, selon le schéma suivant :

Cellules du premier type.

(Esophage > Estomac > Intestins < Rectum.

Cellules du deuxième type.

(Esophage > Estomac > Intestins > Rectum.

Étant donné que l'autonomie (dans le sens du mouvement d'un tronçon isolé du tube digestif) suit l'ordre :

(Esophage > Estomac < Intestins > Rectum, Lawrentiew pense que les cellules du second type sont liées à l'autonomie de la voie digestive et, inversement, que les cellules du premier type se trouvent en connexion avec les conducteurs centraux.

Les expériences relatives à l'excision des nerfs vagues ont mis en évidence que la section de ces deux nerfs au cou provoque une dégénérescence des appareils péricellulaires des cellules du premier type. La présence d'une quantité considérable de cellules de ce type dans le rectum fait supposer qu'elles y sont liées au système parasympathique. L'exclusion des nerfs errecteurs a pleinement confirmé cette hypothèse. Ces nerfs

étant sectionnés des deux côtés, les appareils péricellulaires des cellules du rectum du premier type se régénèrent.

Donc la répartition irrégulière des cellules du premier et du second type sur l'appareil digestif dépend des conducteurs centraux, notamment du nerf vague, qui domine dans la portion crânienne du tube digestif, et du nerf errecteur qui domine dans la portion caudale.

En revenant au problème du rôle du système nerveux dans le développement du processus inflammatoire local, nous devons exposer ce qui suit. L'analyse de ce processus en détail donne l'impression qu'il est autonome et qu'il ne dépend pas du système nerveux. Si au contraire nous envisageons la question dans sa totalité, en suivant le cours de l'inflammation des tissus, les résultats de nos observations sont différents. Peu de temps après le début de l'inflammation, le système nerveux est entraîné dans le processus inflammatoire et, dans la suite, non seulement l'intensité et le caractère de ce processus, mais aussi le sort même de l'animal dépendent de cette condition.

Ce n'est pas tout. Les expériences de Pigalew et Kousnetzow, relatives aux troubles trophiques limités et diffus, ont mis en évidence que le rôle du système nerveux dans l'inflammation aiguë ne s'achève pas au moment où l'inflammation cesse à la périphérie. Le foyer infectieux provoque telle ou telle modification non seulement à l'endroit de son développement, mais aussi dans l'organisme entier. Les lésions disparaissent quelquefois sans laisser de traces. S'il se trouve parmi les cellules lésées une cellule nerveuse « trophique » correspondante, la région antérieurement enflammée restera toujours aisément vulnérable. Des émotions psychiques, le refroidissement ou l'échauffement, le surmenage, une lésion traumatique, des modifications atmosphériques, etc., sont capables de produire à différents degrés telle ou telle action « généralisée » sur l'organisme. Ces mêmes facteurs, comme nous l'avons déjà partiellement constaté, peuvent provoquer une véritable récurrence du processus inflammatoire antérieur, complètement achevé à la périphérie, à la condition que la cellule nerveuse, entraînée dans ce processus, conserve une trace de la lésion provoquée.

Au cours de l'action de ces facteurs, l'équilibre incomplet de la cellule sera modifié, et, à la périphérie, dans les tissus cor-

respondants, se produiront des conditions favorables au développement de l'inflammation.

Mais il n'est pas indispensable, pour obtenir ce résultat, que l'agent irritant soit dans un état « latent » au lieu même de la perturbation. On peut, en effet, trouver dans le sang tel ou tel germe pathogène en l'absence de symptômes généraux ou de foyers locaux. Les microbes qui ont pénétré dans la circulation sanguine ne peuvent se fixer localement dans les tissus lorsqu'ils ne trouvent pas des conditions particulières favorables. Dès que ces conditions sont remplies, des foyers inflammatoires apparaissent dans les tissus restés jusque-là indemnes. Les expériences de Wichnewsky, Marienkow, Pigalew et Kousnetsov ont, en effet, démontré que, d'une manière générale, les microbes ne deviennent « pathogènes » que dans les limites des foyers inflammatoires ainsi constitués. L'extension et la généralisation de l'infection sont rarement observées.

B. — INFLAMMATION CHRONIQUE.

Nos premières expériences sur l'inflammation chronique (1) ont été effectuées en inoculant des bacilles de Koch à des chiens. Mais ces animaux conviennent mal à de telles recherches, en raison de l'irrégularité de leur résistance au bacille tuberculeux. C'est pourquoi nous leur avons substitué le lapin, très réceptif à la tuberculose.

Nous avons infecté deux lapins de même poids en leur inoculant, dans le lobe inférieur du poumon droit, une petite dose égale de la même culture (Bovine Vallée, de virulence affaiblie). Cinq à six jours après, on évacua le liquide céphalo-rachidien chez l'un de ces animaux et on répéta cette opération tous les deux ou quatre jours. Quatre à cinq semaines après l'infection, ces deux lapins furent sacrifiés. A l'autopsie, on constata que le poumon droit était atteint par le processus tuberculeux, mais, chez l'animal dont le liquide céphalo-rachidien avait été évacué, ce processus était beaucoup plus marqué et s'étendait au poumon gauche et à la plèvre. Chez le lapin témoin, les lésions localisées au poumon droit étaient nettement moins étendues;

(1) Ces *Annales*, 1929, t. LXIII, p. 4516.

les lésions de la plèvre étaient peu accusées ou faisaient défaut.

Dans une autre expérience, des lapins ont été infectés, comme les précédents, par inoculation de la même dose de la même culture dans le lobe inférieur droit. Chez certains d'entre eux, on sectionna le nerf vague gauche, chez d'autres le nerf vague droit. Quelques jours après, on procéda, chez tous les animaux, à l'évacuation périodique du liquide céphalo-rachidien, à des intervalles de deux ou trois jours. Au bout de quatre ou cinq semaines ils furent sacrifiés. On constata à l'autopsie que le poumon droit et la plèvre droite étaient toujours envahis par le processus tuberculeux; mais le poumon gauche et la plèvre gauche étaient plus faiblement atteints que chez les animaux de la série précédente. Par conséquent, la section d'un des nerfs vagues dans la région cervicale avait eu pour effet de préserver le poumon gauche, malgré la présence de foyers pleuraux et pulmonaires considérables à droite et l'évacuation périodique du liquide céphalo-rachidien.

On peut supposer que, chez les animaux ainsi infectés, le nerf vague droit étant sectionné, l'évacuation du liquide céphalo-rachidien ne provoquait aucune lésion segmentaire du système cérébro-médullaire par les produits du foyer local. Inversement, la lésion du nerf gauche détermine une lésion segmentaire, mais les influences nerveuses nocives ne peuvent plus se transmettre à la périphérie, en raison d'une interruption de la voie nerveuse.

Nous avons ensuite fait une série d'expériences sur le lapin, analogues à celles de P. W. Manienkow, précédemment décrites (expériences de I. A. Pigalew et G. S. Epstein), en employant le BCG de Calmette et Guérin dont l'atténuation est si complète qu'il ne provoque plus d'altérations tuberculeuses transmissibles en série chez les animaux réceptifs. Le BCG fut inoculé à des lapins aux mêmes doses et aux mêmes points dans la paroi de l'estomac et dans la paroi du gros intestin. Un mois plus tard, ces lapins furent sacrifiés et autopsiés. Chez tous on constata des altérations de la paroi stomacale beaucoup plus accusées que celles du gros intestin. Au niveau de chaque point d'inoculation, l'estomac présentait une infiltration du volume d'un pois à celui d'une noisette, un œdème insignifiant et, exceptionnellement, une ulcération de la muqueuse. Dans la paroi

du gros intestin, on trouva une hyperémie et un point purulent au lieu même de l'inoculation, mais, en aucun cas, il n'existait sur la séreuse les petites infiltrations inflammatoires diffuses et limitées que nous avons constatées chez les lapins inoculés dans l'estomac.

Lorsqu'on inoculait le BCG dans la paroi de l'estomac d'un lapin « dévagué », les altérations locales inflammatoires observées un mois après étaient constamment moins marquées que celles de l'estomac des lapins non « dévagués », mais elles étaient plus importantes que celles de la paroi intestinale des lapins normaux inoculés dans cet organe. Ces résultats sont comparables à ceux qu'a obtenus P. W. Manienkow.

A l'examen microscopique de fragments de ces lésions, nous n'avons pas trouvé de tubercules typiques, mais des réactions cellulaires qui offraient les caractères des réactions inflammatoires chroniques.

Nous avons également inoculé à des lapins, en plusieurs points, les mêmes doses de BCG, les uns dans la paroi de l'estomac, les autres dans la paroi du gros intestin. Les lésions inflammatoires constatées à l'autopsie dans la paroi du gros intestin étaient encore moins marquées que chez les lapins de l'expérience précédente. Les points d'inoculation (5 ou 6) avaient disparu, sauf 1 ou 2, qui avaient laissé une petite cicatrice sur la séreuse. Les poumons étaient indemnes. Par contre, chez quelques lapins inoculés quatre ou cinq semaines auparavant dans la paroi de l'estomac, nous avons trouvé des altérations inflammatoires non spécifiques des poumons, comme si les lésions locales de l'estomac avaient provoqué une « sensibilisation » du poumon à cette inflammation.

Avec des bacilles virulents (bovine Vallée), les résultats ont été analogues, quoique moins accusés, car ces bacilles déterminent localement des lésions qui s'étendent au delà du lieu de l'injection. Trois lapins de même poids, dont un était « dévagué » depuis deux semaines, furent laparotomisés et inoculés, dans la paroi stomacale, aux mêmes points, avec une quantité égale de culture Vallée. Deux ou trois semaines après, nous avons « dévagué » un de ces lapins; à ce moment il existait déjà des altérations graves de la paroi de l'estomac, de l'épiploon et du duodénum. Après trois ou quatre nouvelles

semaines, les lapins « dévagués » et le témoin furent sacrifiés. Chez les lapins « dévagués », on trouva à l'autopsie des lésions très accentuées de l'estomac, de l'épiploon, du foie, du péritoine pariétal, etc. L'épiploon était plissé, déformé, sclérosé, criblé de tubercules isolés ou agglomérés. L'estomac, où les points de l'inoculation n'étaient plus visibles, présentait également des lésions très étendues. Le péritoine pariétal, surtout dans sa portion diaphragmatique, était couvert de tubercules. Le péritoine viscéral, revêtant l'intestin grêle et surtout le gros intestin, et le mésentère étaient beaucoup moins atteints. Chez les lapins qui avaient été « dévagués » au-dessous du médiastin deux semaines *avant* l'infection, des tubercules isolés ou diffus furent trouvés sur l'épiploon; mais cet organe n'était ni sclérosé, ni soudé aux parties voisines. Les points de l'inoculation restaient visibles dans la paroi stomacale où ne s'étaient développés que des tubercules isolés. Le péritoine pariétal était gravement atteint, tandis que le péritoine viscéral, le gros intestin, l'intestin grêle et le mésentère paraissaient indemnes. Les lésions présentées par les lapins dévagués deux ou trois semaines *après l'infection* ne différaient pas sensiblement de celles des lapins dévagués *avant l'infection*. Nous avons également infecté des lapins, par paires, en leur inoculant directement, dans la cavité abdominale, des doses considérables de bacilles bovins (bovine Vallée), quelques jours après la section des nerfs vagues dans la région cervicale droite, ou le même jour, ou encore une ou deux semaines avant. Les lésions abdominales observées à l'autopsie de ces animaux ne différaient pas sensiblement de celles des témoins. Par contre, les poumons, au lieu d'être envahis en totalité par le processus tuberculeux, ne présentaient que des tubercules dispersés; parfois même ces organes étaient indemnes, comme si la section des nerfs vagues avait suffi à les préserver de l'infection.

Il résulte de ces expériences que les animaux infectés par le bacille de Koch subissent non seulement l'action d'un irritant microbien spécifique, mais encore d'autres influences qui dépendent du système nerveux. Peu après qu'il s'est formé, le foyer tuberculeux entraîne les cellules nerveuses correspondantes dans le processus morbide; dès lors le tissu atteint subit une double irritation pathologique.

L'influence du système nerveux sur le processus tuberculeux local est considérable. Lorsqu'on la supprime ou qu'on la suspend, le développement des lésions se trouve modifié : les altérations inflammatoires s'effacent et les microbes disparaissent. Les rapports de l'organisme et du microbe changent au profit de l'organisme et il se produit une sorte de « désensibilisation » des tissus à la tuberculose.

L'attention des médecins de tous les pays est actuellement attirée par les expériences d'immunisation contre la tuberculose par la méthode de Calmette et Guérin. Il me semble que les résultats obtenus tiennent, en particulier, à l'immunisation du système nerveux : la toxine tuberculeuse — quelle qu'elle soit — cesse d'être pathogène pour la cellule nerveuse. Les foyers provoqués par une infection virulente ultérieure n'agissent plus sur cette cellule ; les tissus intéressés ne subissent plus l'influence de l'« irritant » microbien, et ils se montrent réfractaires ou aptes à la résistance. On peut supposer que les « facteurs constitutionnels » multiples, déterminant la prédisposition à la tuberculose, coïncident avec les conditions qui modifient la cellule nerveuse. J'estime que l'étude de ces conditions mérite plus d'attention que celle de la forme du thorax, du volume du cœur, du diamètre de l'aorte et de nombre d'autres facteurs auxquels on attribue la « constitution tuberculeuse ».

La division des inflammations en inflammations aiguës et chroniques est essentiellement fondée sur la durée de l'état inflammatoire dans les tissus. La différence entre ces deux processus, au point de vue des modifications cliniques et anatomo-pathologiques, est surtout quantitative. La tuberculose, la gonorrhée, le rhumatisme, la lèpre et d'autres affections rentrent ainsi dans le cadre des inflammations chroniques.

La péritonite aiguë purulente et la péritonite tuberculeuse ne diffèrent que par la durée de leur évolution : l'agent microbien, moins actif dans la tuberculose, peut cependant être toujours retrouvé, comme l'agent des péritonites suppurées, au siège même des altérations inflammatoires. Par contre, dans le rhumatisme chronique et dans d'autres processus inflammatoires chroniques, le microbe est absent, dès le début, dans les tissus enflammés. Dans la suite, il peut se fixer dans les tissus

modifiés, mais cette circonstance, purement accidentelle, ne joue qu'un rôle secondaire dans le développement ultérieur du processus.

La tuberculose, généralement citée comme exemple d'inflammation chronique, offre beaucoup de traits communs avec certains processus inflammatoires aigus. Aussi me paraît-il nécessaire de distinguer trois formes d'inflammations : *aiguë*, *chronique* et *trophique*. Les *inflammations chroniques* comprendraient : la tuberculose, l'actinomycose, la lèpre et, d'une manière générale, tous les processus qui diffèrent des inflammations aiguës, non par leur genèse, mais par la durée de leur développement.

Les processus inflammatoires aigus et chroniques ainsi compris sont dominés par les réactions dites d'immunité. Quant à l'*inflammation trophique*, elle doit être envisagée d'un point de vue tout différent. On chercherait inutilement à en modifier le cours parce qu'il ne dépend plus de l'infection spécifique.

Il convient pourtant de remarquer qu'on rencontre rarement ces trois formes d'inflammation sous des aspects nettement distincts, car la forme trophique s'ajoute à presque toutes les formes aiguës et chroniques.

EFFETS DES INJECTIONS DE SÉRUM HOMOLOGUE SUR LA TAILLE ET LA CROISSANCE DES ANIMAUX

par C. PICADO.

(*Hôpital San Juan, San José, Costa-Rica.*)

Les travaux bien connus de Carrel [1] et ses collaborateurs [1] ont mis en évidence les faits suivants :

1° Le sérum d'animal adulte est empêchant pour la culture des tissus *in vitro*.

2° Cette propriété empêchante augmente avec l'âge de l'animal fournisseur du sérum.

3° Dans les sérums des vieux animaux, il existe des albuminoïdes et des lipoides que l'on ne trouve pas dans le sang de jeunes animaux de même espèce.

4° Si l'on saigne un vieil animal et si l'on réinjecte ses propres globules lavés à l'eau glucosée, de manière à éliminer la totalité du sérum sanguin, celui-ci est bientôt régénéré, mais avec des caractères de *vieux sérum*, c'est-à-dire que le plasma sanguin porte la marque de l'âge des tissus qu'il baigne.

Il s'ensuit que le sérum d'un vieil animal doit être considéré, par rapport au jeune de même espèce, comme une *hétéro-albumine*.

Certaines constatations montrent qu'il existe de grandes différences entre le sérum d'un animal jeune et celui d'un vieil animal de même espèce : c'est ainsi que Kotsovsky [2] montre que les hémolysines naturelles bœuf anti-lapin augmentent avec l'âge du bœuf. Noyes, Folk et Baumann [3] trouvent que les lipases des divers tissus diminuent avec l'âge de l'animal. Dans les greffes, on voit souvent dégénérer le greffon. Lipschütz [4] a montré que l'ovaire embryonnaire, greffé chez une femelle adulte, devient fonctionnellement rapidement en désaccord avec son âge, l'influence humorale étant nette dans ces deux cas.

A. Lumière et R.-B. Grange [5], en étudiant comparative-ment la toxicité du sérum du nouveau-né et de celui de la mère, par injection au cobaye, ont constaté que le sang maternel provoque des chocs mortels dans 66 p. 100 des cas environ, tandis que le sérum du sang ombilical ne produit ces accidents que dans environ 7 p. 100 des cas.

Nous avons pu constater, en outre, que l'injection de sérum d'enfant est de beaucoup moins toxique pour le lapin que l'injection de sang de vieillard, qui a provoqué chez ces animaux des chocs très graves, des lésions cutanées suivies d'escarres, et même une cécité définitive du lapin.

Le sang de vieil animal renferme donc des albumines, des lipoides, des diastases et des toxalbumines qui n'existent pas chez le jeune animal de même espèce. Cette différence est tellement marquée que, souvent, nous avons obtenu la coagulation du sérum de vieillard par chauffage à 55°-56°. Toutes ces qualités font prévoir que le sérum de vieil animal doit jouir de propriétés antigéniques différentes de celles de l'animal jeune.

I. SÉRUM D'ENFANT ET SÉRUM D'HOMME AGÉ COMME ANTIGÈNES HÉTÉROLOGUES. — Un lapin mâle reçoit, par voie intraveineuse et intrapéritonéale, la première fois, puis par voie sous-cutanée, des injections de sérum d'enfant (mâles de sept à dix ans). Les injections sont faites tous les huit jours pendant deux mois et demi. Un autre lapin mâle de même poids est traité de la même manière, mais en employant du sérum d'homme âgé (soixante-deux à soixante-seize ans).

Comme il est logique, les sérums des deux lapins ainsi traités précipitent tout sérum humain, mais chacun d'eux fait flocculer plus nettement le sérum d'âge correspondant à celui des donneurs de sérum. La meilleure manière de mettre ce fait en évidence c'est de mélanger, en parties égales, quelques sérums d'enfants et quelques sérums d'hommes âgés (il va sans dire que l'on prend d'autres personnes et non celles qui ont servi pour immuniser les lapins). Chaque mélange bien clair est mélangé au sérum précipitant lapin *anti-enfant* et lapin *anti-vieux*. On laisse vingt-quatre heures à la glacière, puis deux heures à 37°C. La prédilection des précipitines est alors très nette. Nous avons essayé aussi de pratiquer la déviation du

complément, mais les résultats, quoique concordants, sont moins nets. En tout cas ces expériences montrent que l'on peut obtenir des hétéro-anticorps sélectifs pour l'âge du sérum antigène. Nattan-Larrier et Lépine [6] ont montré que le sérum précipitant cheval anti-homme précipite plus nettement le sang de la mère que celui du nouveau-né et, puisque le cheval a dû vraisemblablement être préparé par du sérum d'adulte, il faut interpréter ce résultat comme dû à des précipitines sélectives pour l'âge du donneur (1).

II. ISO-ANTICORPS DE VIEILLESSE. — Il existe peu d'expériences sur la formation d'iso-hémolysines, mais il semble que l'on a pu les constater chez la chèvre et chez le porc. D'autres faits semblent prouver qu'il y a formation d'iso-anticorps dans certaines circonstances. C'est ainsi que Fibiger et Möller [8] ont vérifié que, si l'on immunise des souris contre la peau embryonnaire de même espèce, on obtient des animaux plus réfractaires aux métastases du cancer du goudron provoqué chez elles. Zernoff [9] montre que si l'on injecte des chenilles de *Galleria* avec du sang de chenilles normales on arrive souvent à vacciner, non spécifiquement, ces insectes contre des doses mortelles de certains microbes pathogènes pour la larve.

Les ferments de défense d'Abderhalden ne seraient en somme que des iso-anticorps plus ou moins spécifiques.

Nous avons tenté d'obtenir chez le lapin des isohémolysines ou des isoprécipitines expérimentales qui puissent être comparables aux hétéroprécipitines de vieillesse dont nous venons de parler.

Trois lapins, un mâle et deux femelles, d'un kilo chacun, sont injectés par voie intrapéritonéale, toutes les semaines, et pendant six mois, avec du sang citraté total de vieux lapins mâles, en changeant de donneur à chaque injection. Le sérum des animaux ainsi traités a montré les faits suivants :

1° Il n'y a pas formation d'isohémolysines, quels que soient l'âge et le sexe des animaux;

(1) Quoique les vues de H. Busquet [7] soient différentes des nôtres en ce qu'il cherche l'immunité passive, nous nous sommes empressé de publier les résultats de nos expériences dans une revue locale dont la bibliographie est indiquée à la fin de ce mémoire. Ceci pour prendre date, au besoin, étant donné l'isolement du pays.

2° Le sérum de chacun des animaux traités précipite le sérum de trois autres vieux lapins, mâles ou femelles, n'ayant jamais servi comme donneurs ;

3° Ces sérums sont inactifs vis-à-vis du sérum de jeunes lapins ;

4° Les sérums des animaux précipités par l'immun-sérum expérimental ne précipitent point si on les mélange avec le sérum des trois autres lapins témoins du même âge que ceux injectés.

Il est donc possible de constater *in vitro* la formation, chez

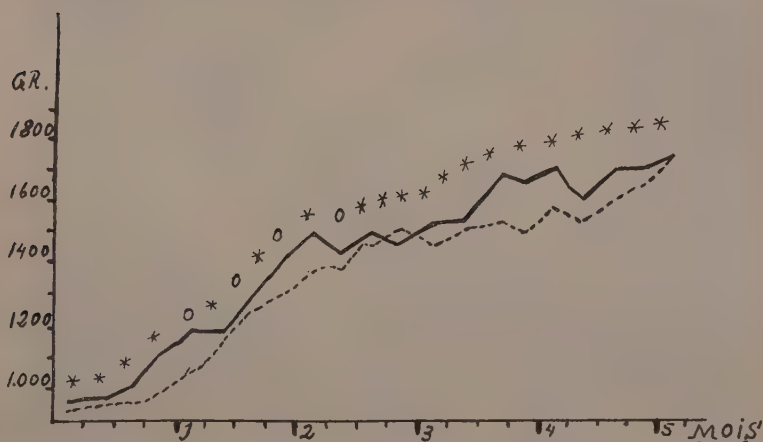


FIG. 1. — Croissance des lapins ——— = moyenne de trois animaux traités par injections hebdomadaires de 1 c.c. de sérum de vieux lapin mâle, les ★ ★ indiquent les injections, - - - = moyenne de trois frères témoins.

les jeunes animaux, d'anticorps contre le sang de vieux animaux de même espèce.

III. EFFETS PRODUITS CHEZ LES JEUNES LAPINS PAR L'INJECTION DE SÉRUM HOMOLOGUE D'ANIMAL AGÉ. — Dans une première expérience, nous avons pris trois lapins, un mâle et deux femelles, qui ont été injectés par voie sous-cutanée avec du sérum de vieux lapin mâle. A partir des premières injections, à huit jours d'intervalle (courbe n° 1) nous avons constaté une accélération très marquée dans la croissance des trois animaux, par comparaison à des témoins de la même portée : un mâle et deux

femelles. Pour savoir si l'on devait attribuer au sérum injecté cette accélération de croissance, et pour savoir si l'effet de l'injection est prolongé, à partir du premier mois, nous avons fait des injections à intervalles de quinze jours. Les courbes moyennes de croissance se sont alors rapprochées. En recommençant les injections à huit jours d'intervalle, on assiste à un nouvel écart des courbes de croissance, qui finissent par se confondre ou même se croiser, comme nous le verrons tout à l'heure.

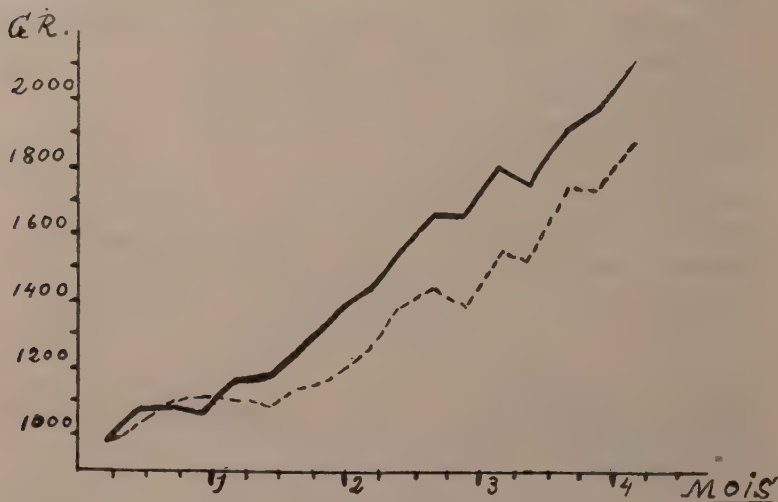


FIG. 2. — Croissance des lapins, — = moyenne de trois animaux traités par le sérum de femelle, --- = moyenne de trois frères témoins.

Dans une autre expérience, nous avons pris six lapins de même âge dont trois ont été injectés (un mâle et deux femelles) et les trois autres, un mâle et deux femelles, ont servi de témoins. Cette fois, les donneurs de sérum ont été des femelles et les injections, à huit jours d'intervalle, ont été continuées pendant plus d'une année jusqu'à l'heure actuelle. L'accélération de croissance des jeunes lapins traités a été des plus nettes et la courbe n° 2 nous donne le détail des premiers mois.

Il y a donc, avec ce traitement sérique, soit un apport de matériaux nutritifs aux receveurs, soit une excitation de leurs fonctions de nutrition, soit une excitation hormonique passive ou, ce qui est plus probable, un complexe de ces diverses propriétés.

IV. INFLUENCE SUR LE RECEVEUR DES HORMONES DU DONNEUR. — Pour étudier l'influence de l'âge, du sexe et de la race du donneur sur les jeunes animaux en voie de croissance, nous nous



FIG. 3. — Poulets mâles *Leghorn* de trois mois. Celui de gauche a reçu trois injections de 1 c. c. de sérum de poule à huit jours d'intervalle, il pèse un tiers de plus que le témoin (à droite).

sommes adressé aux gallinacés chez qui les conditions d'apparition des caractères sexuels secondaires ont été si bien étudiées, particulièrement par Pézard [10]. Trois séries de poulets *Leghorn* mâles, âgés de deux mois, reçoivent *a*) sérum de poulet de même âge; *b*) sérum de coq de même race; *c*) sérum

de poule de même race; d) une quatrième série sert de témoins. Les injections de 1 cent. cube de sérum, sous-cutanées, ont été pratiquées à huit jours d'intervalle.

A partir de la première semaine, on constate que tous les poulets injectés augmentent plus rapidement de poids et de taille que ceux qui servent comme témoins. Cette accélération de croissance est plus marquée chez les animaux traités par le sérum de poule, un peu moins marquée chez ceux traités par le sérum de coq, et moindre encore chez ceux qui reçoivent le sérum de poulet de même âge ou plus jeunes. Il semble donc que, *in vivo*, le sérum de poulet se comporte autrement que dans les cultures de tissus *in vitro*. La figure 3 nous montre deux poulets : l'un, traité par le sérum de poule qui pèse 305 grammes et un témoin de même âge, frère du précédent, qui ne pèse que 210 grammes. 3 ou 4 grammes de sérum de poule injectés ont provoqué une augmentation de poids d'environ 100 grammes chez un poulet. Nous avons répété l'expérience à plusieurs reprises avec des résultats comparables.

V. SEXE DU DONNEUR ET CARACTÈRES SEXUELS SECONDAIRES DU RECEVEUR. — Dès les premières expériences, nous avons constaté que les poulets mâles traités par le sérum de coq acquièrent plus vite que les témoins la crête et les barbillons ainsi que les faucilles, tandis que ceux traités par le sérum de poule ont un retard manifeste dans l'apparition des caractères sexuels secondaires.

La figure 4 nous montre l'aspect, masculinisé chez l'un et féminisé chez l'autre, de deux poulets de même âge ayant reçu le même nombre d'injections de sérum, mais dont l'un a reçu celui de coq et l'autre celui de poule.

Dans les diverses séries de poulets mâles traités par le sérum de poule, on trouve souvent, mais pas toujours, des animaux à type « chimère » présentant à la fois certains caractères mâles très marqués et certains caractères du type femelle. La figure 5 nous montre l'une de ces « chimères sériques » que nous avons obtenues. L'animal photographié avait une psychologie typique de mâle, était combatif, et a fécondé les poules gardées avec lui.

Quant aux poulettes traitées par le sérum de coq, la seule

influence, maintes fois observée, est l'accélération plus active de leur croissance, dans le premier âge; pour activer la croissance, il est donc plus utile d'employer le sérum de l'autre sexe. Un double antagonisme entre croissance somatique et maturité



FIG. 4. — Poulets *Leghorn*, frères mâles de trois mois. Celui de gauche a été traité par le^e sérum de poule et celui de droite par sérum de coq (témoins intermédiaires).

sexuelle, ainsi qu'un antagonisme entre les hormones des sexes différents, pourraient nous expliquer ce fait.

Dans une autre série d'expériences, nous avons suivi parallèlement l'influence des sérums de coq, de poule et de coq châtré sur des poulets *Leghorn*, mâles et femelles, de même âge. L'augmentation moyenne de poids pour les mâles a été en trois mois avec le sérum de coq de 490 grammes, avec le sérum

de poule de 550 grammes et avec le sérum de coq châtré de 446 grammes. Pour les femelles, dans le même temps et avec les mêmes donneurs, l'augmentation de poids avec le sérum de coq a été de 435 grammes, avec le sérum de poule de 400 grammes et avec le sérum de coq châtré de 550 grammes.

C'est-à-dire que le sérum de sexe croisé s'est montré plus



FIG. 5. — Coqs de six mois. Celui de gauche a été traité par le sérum de poule (il présente un corps de poule et une tête de coq); à droite, témoin du même âge.

actif, comme d'habitude, et que celui de coq châtré est à la fois moins actif pour les mâles et plus actif pour les femelles. Le sérum d'un mâle châtré ne peut donc nullement être comparé à celui d'un poulet non pubère. Trentini [11] avait déjà montré que le sérum de lapin châtré n'a pas d'influence sur le thymus des jeunes animaux à qui il est injecté, contrairement à ce qui se passe avec le sérum de mâles adultes normaux. La moitié des poulets gardent, en outre, crête et barbillons réduits, ce qui

prouve que le sérum de chapon renferme des substances *actives* antagonistes des hormones orchitiques.

VI. INFLUENCE DE LA RACE DU DONNEUR. — Il est bien connu que les hormones (hormozomes) règlent la croissance, et que les différences de taille des diverses races d'animaux doivent souvent être dues à différents états d'équilibre hormonal ne



FIG. 6. — Coqs de sept mois. Celui de droite a été traité par le sérum de coq. Ceux de gauche, par le sérum de coq châtré (inhibition des caractères sexuels secondaires mâles).

pouvant plus être considérés comme des caractères pathologiques. Chez les poules, il existe des variétés naines qui ne constituent pas des races particulières, mais qui reproduisent, à petite échelle, les caractères des races de taille normale. Chez ces variétés naines, on trouve un crâne raccourci et de gros yeux exorbités. Le plumage définitif apparaît précocement ainsi que le fonctionnement sexuel. Ces faits nous rappellent certains troubles thyroïdiens et hypophysiens étudiés chez

l'homme. Nous avons choisi ces animaux comme donneurs, et comme receveurs deux races : White Leghorn qui nous a servi pour d'autres expériences décrites ici, et que la taille, les mues du plumage ainsi que la précocité sexuelle rapprochent des variétés naines, et nous avons utilisé, comme receveurs, des poulets de race Barred Plymouth Rock. Les volailles de cette race ont de longues pattes, un crâne étroit et très allongé; le plumage définitif n'apparaît que très tardivement ainsi que la maturité sexuelle. Cette race semblerait jouir d'un équilibre harmonique bien différent de celui des races naines. On a vu, d'autre part, que si l'on traite des poulets de cette race par des extraits thyroïdiens, on obtient :

1° Un retard de croissance ;

2° Une apparition précoce du plumage définitif ;

Une augmentation du blanc dans les zébrures des plumes (d'après le travail de Krizenecky [12]).

Chez les White Leghorn traités par le sérum de race naine, nous n'avons pu constater de différences avec les animaux traités par du sérum de même race, mais les poulets Plymouth Rock se sont comportés tout autrement. Pour la première fois, nous avons assisté à un retard de croissance consécutif à l'injection de sérum de même espèce. Ce retard est temporaire et subsiste tant que le poulet injecté pèse moins que le coq donneur, mais, à partir du moment où les poids se correspondent le traitement sérique semble devenir indifférent; quant à son influence sur la croissance, on constate que les animaux traités acquièrent leur plumage définitif plus rapidement que les témoins; en même temps, la puberté est plus précoce chez les traités. Les bandes blanches des plumes des animaux traités sont plus larges que celles des témoins. Le traitement sérique chez les races naines serait comparable au traitement thyroïdien, et il existe donc une influence humorale nette d'une race sur l'autre. Les figures 6, 7 et 8 nous montrent la différence de taille des poulets traités et des témoins et les zones blanches plus étendues chez les coqs traités depuis plusieurs mois.

VII. CROISSANCE PRÉPUBÉRALE ET TAILLE DE L'ADULTE. — Nous avons constaté, avec une constance remarquable, que les poulets, traités par le sérum de l'autre sexe de même race, sont

ceux dont la croissance est la plus accélérée au commencement; mais la taille définitive acquise par ces animaux est toujours moindre que celle acquise par les témoins ou par les animaux traités par le sérum de même sexe. C'est ainsi que nous possédons des coqs Withe Leghorn, âgés d'un an et demi, qui ont



FIG. 7. — Poulets *Plymouth Rock* de quatre mois et demi. Celui de gauche a été traité par le sérum de coq de race naine. A droite, témoin.

été traités par le sérum de poule et qui ne pèsent que 1.600 grammes au lieu de 2.000, qui est le poids normal. Nous avons aussi des poules de même race, âgées de deux ans, et traitées par le sérum de coq, qui ne pèsent que 1.000 grammes tandis que les témoins pèsent 1.500 grammes.

Pour savoir si une croissance prépubérale accélérée correspond à une taille adulte plus petite, nous avons fait venir des

mouches vivantes des côtes chaudes de notre pays, où leur développement larvaire est abrégé, et, en les comparant avec les mouches de l'intérieur du pays où la température normale est de 20°C, nous avons constaté que celles des côtes chaudes sont les plus petites. D'autre part, nos enfants sont plus grands et pèsent plus que les enfants européens de même âge, mais à partir de la puberté les nôtres souffrent d'un arrêt de croissance, de sorte que, à partir de quinze à seize ans, les enfants d'Europe sont plus grands et pèsent plus que les nôtres du même âge.

Nous supposons que la lumière très actinique des tropiques, en irradiant l'ergostérol du sang, serait un facteur de croissance. Rappelons, en passant, que les races méditerranéennes sont en Europe les races de plus petite taille. Dans nos pays, les fils d'Européens (père et mère) présentent, eux aussi, une accélération semblable de croissance qui doit être rapportée au facteur milieu et non au facteur race. Il est donc fort possible que l'un des facteurs apportés par le sérum d'animal âgé, injecté au jeune, soit constitué par les produits irradiés de son sang.

VIII. L'INSTINCT COUVEUR DES POULES ET LE TRAITEMENT SÉRIQUE. — Tenant compte du fait que le dimorphisme sexuel des oiseaux est dû à une sécrétion active de l'ovaire et que c'est justement chez les femelles à humble plumage, comme la poule, que « l'instinct maternel précoce » est le plus développé, nous avons cherché à savoir s'il y avait dans le sang de poule couveuse quelque sécrétion, hormonique ou autre, poussant l'animal à couvrir, ou bien si cet état était dû à un déficit humoral. Nous avons fait les expériences suivantes :

1° L'injection à une poule normale de 2 cent. cubes de sérum de poule couveuse, pendant quatre jours, n'a provoqué aucun changement ;

2° Nous avons injecté 2 cent. cubes de sérum de poule normale (époque de ponte) par jour à une poule, déjà connue comme bonne couveuse, après quelques jours de séjour au nid. A la deuxième injection, on note un changement d'attitude ; à la troisième, la poule abandonne le nid et, à la quatrième, même la voix est celle d'une poule pondeuse normale. On répète

l'expérience avec les mêmes résultats et la poule recommence à pondre dix jours plus tard; cette poule pond alors cinq œufs seulement, et recommence son cycle couveur habituel, qui se prolonge pendant un mois au moins. Le traitement sérique, tel



FIG. 8. — Coqs *Plymouth Rock* de huit mois. Celui de gauche, à zébrures blanches plus larges, a été traité par le sérum de coq de race naine. A droite, témoin.

que nous l'avons pratiqué, n'amène donc qu'une époque de ponte passagère.

Le traitement de poule couveuse par le sérum de coq reste sans effet.

Cette expérience montre, dans un bref délai de quatre jours, l'influence très nette du traitement sérique homologue.

IX. INFLUENCE DU TRAITEMENT SÉRIQUE SUR LE SEXE DE LA PROGÉNITURE. — L'influence hormonique du traitement sérique mise en évidence par la modification des caractères sexuels secondaires (vitesse de croissance et modification d'états physiologiques) pourrait peut-être influencer aussi le déterminisme du sexe chez les petits des animaux injectés. Pour éliminer une série de problèmes concernant les deux sortes de spermatozoïdes chez les mammifères et les deux sortes d'ovules chez les oiseaux qui, étant porteurs d'un chromosome supplémentaire, seraient, soit mâles, soit femelles, et dont la conjugaison soit des uns, soit des autres, déciderait le pourcentage de mâles et de femelles des générations futures, nous avons traité, à la fois, des mâles et des femelles chez les lapins et chez les volailles, soit par le sérum de mâle, soit par le sérum de femelle.

Les résultats obtenus jusqu'alors sont les suivants :

Pour les couples de lapins traités par le sérum de mâle (1 cent. cube par semaine pendant une année tout au moins) les mises-bas, pour quatre femelles fécondées par trois mâles, ont été au nombre de sept. Les embryons ont été tués le jour de leur naissance pour ne pas les perdre et on a noté : (3 ♂ + 2 ♀) (2 X + 3 ♀) (2 ♂ + 4 ♀) (2 ♂ + 5 ♀) (3 ♂ + 4 ♀) (3 ♂ + 0 ♀) (0 ♂ + 3 ♀) = 13 ♂ + 21 ♀ + 2 X. Soit plus de 60 p. 100 de femelles au lieu de 50 p. 100. Il semble y avoir une augmentation du nombre des femelles. Ces faits ne sont pas à rapprocher des faits obtenus par plusieurs auteurs en traitant les femelles, soit par l'insuline, soit par la thyroïdine, soit par des extraits ovariens, qui ont provoqué une augmentation du pourcentage des femelles; en effet, par ces traitements, on a diminué le nombre des fœtus de chaque portée au détriment du sexe masculin qui, dans ce cas concret, serait le plus faible. Dans nos expériences on voit que dans les portées normales de 7 fœtus il est de règle d'avoir une prépondérance de femelles.

Pour les couples de lapins traités par le sérum de femelle on a eu 4 portées : (3 ♂ + 3 ♀) (3 ♂ + 3 ♀) (3 ♂ + 2 ♀) (3 ♂ + 3 ♀). Soit 12 ♂ + 11 ♀.

Deux femelles témoins accouplées avec un mâle traité par le sérum de femelle ont donné en 5 portées : (2 ♂ + 3 ♀) (2 ♂ + 3 ♀) (3 ♂ + 1 ♀) (2 ♂ + 1 ♀) (2 ♂ + 3 ♀) = 11 ♂ + 11 ♀.

Cela semble démontrer que le sérum de femelle est resté

indifférent, tandis que le sérum de mâle aurait provoqué une réaction antagoniste.

Chez les poules, nous avons obtenu pour 2 femelles et 1 coq Leghorn, traités par l'injection de 1 cent. cube de sérum de coq toutes les semaines, pendant plusieurs mois : 260 ♂ et 34 ♀ en 10 couvées espacées dans une année et pour une poule Plymouth Rock et un coq de même race traités aussi par le sérum de coq 8 ♂ et 12 ♀ en 9 couvées.

Il y a également prédominance du nombre des femelles dans les couples traités par le sérum de mâle, tandis que chez ces oiseaux le traitement par le sérum de poule s'est montré tout à fait indifférent, comme dans le cas des lapins. Il faut faire remarquer que la plus grande partie des poulets ont été tués avant l'éclosion, pour être sûr de ne pas les perdre, car il est bien connu que la mortalité frappe surtout les mâles. Il nous reste à multiplier les expériences et à intensifier le traitement.

X. PAR TRAITEMENT SÉRIQUE TRANSFUSE-T-ON DES CARACTÈRES SÉNILES ? — Pour savoir quel effet produit chez l'homme adulte de quarante-deux ans l'injection de sérum d'homme déjà vieux, nous avons institué une auto-expérience : nous nous sommes injecté par voie sous-cutanée des sérums d'hommes dont l'âge a varié entre soixante-seize et quatre-vingt-six ans. Les doses ont été de 1 cent. cube à huit jours d'intervalle; puis 2 cent. cubes une fois par mois et ensuite 5 cent. cubes tous les trois mois, ceci pendant dix-huit mois. A l'heure actuelle nous nous sommes injecté le sérum provenant de plus d'une douzaine de personnes et nous n'avons pu constater aucune déchéance psychique ni physiologique. Ce qui semble prouver qu'aux doses expérimentées il n'y a pas de transfusion sénile appréciable.

XI. PROLONGATION DE LA VIE IMAGINABLE CHEZ BOMBYX MORI. — Pour savoir si la durée moyenne de la vie peut être prolongée chez les vertébrés, il faut attendre plusieurs années et expérimenter sur des centaines d'animaux dans des stations biologiques très bien équipées. Manquant de ces moyens, nous nous sommes adressé au ver à soie, car les chenilles s'immunisent très rapidement, comme l'a montré Métalnikov [13] et parce

que ces insectes, dont l'appareil digestif est atrophié chez le papillon qui ne prend jamais de nourriture, seraient voués à la mort naturelle comme l'a considéré Metchnikoff [14].

Dans nos expériences nous avons pu constater :

1° Les vers à soie sont très sensibles à l'injection de sang de

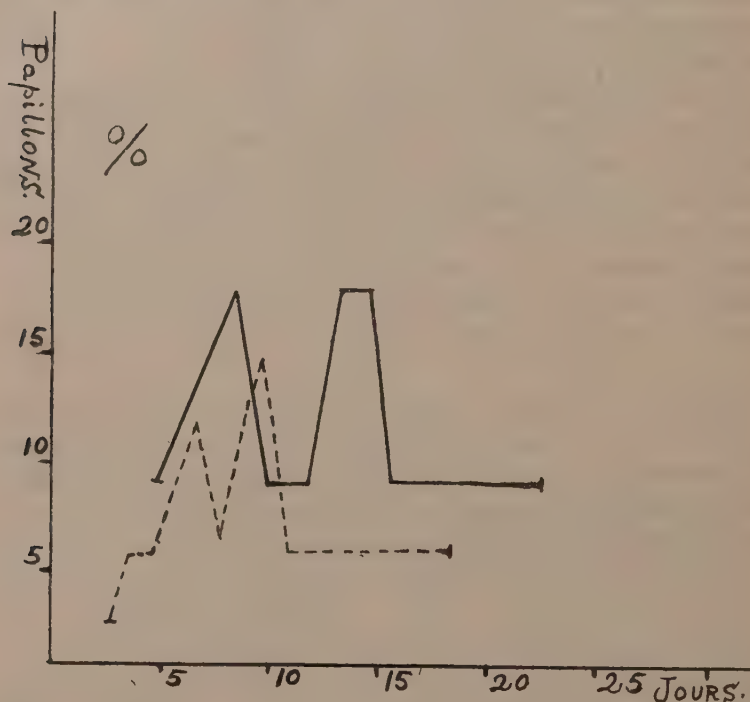


FIG. 9. — Durée de la vie chez les papillons du ver à soie. — = papillons issus des larves traitées par le sang de papillons de même espèce, ---- = papillons témoins.

chenille. Le suc de nymphe ainsi que le sang de papillon, mâle ou femelle, sont mieux supportés, mais si l'on chauffe ces liquides à 55-56° pendant une demi-heure leur injection est sûrement mortelle même au centième de centimètre cube.

2° Ni l'injection de sang de chenille, ni celle de suc de nymphe, ni celle de sang de papillon ne modifie la durée de la vie larvaire.

3° L'injection de suc de nymphe ainsi que celle de sang de papillon, faite à des chenilles sur le point de filer leur cocon, a

prolongé la vie des papillons. En effet, la durée moyenne de la vie chez les papillons témoins a été de 40,31 jours, tandis que celle des papillons, provenant de chenilles injectées, a été de 43,16, soit une augmentation de plus de 27 p. 100.

La courbe ci-jointe nous montre chez les témoins deux sommets de fréquence de mort, l'un à sept, l'autre à dix jours.

Les papillons traités ont aussi deux sommets de fréquence de mort : l'un à huit et l'autre en plate-forme à quatorze jours. Il faudrait rechercher si ces deux sommets correspondent chacun à un sexe. En tout cas, le maximum de longévité a été atteint aussi par les insectes traités, et cette longévité porte, non pas sur les larves, mais sur l'insecte à l'état parfait.

Chez les végétaux nous trouvons un exemple phylogénétique comparable : les greffons annuels sur des patrons vivaces se lignifient et vivent plusieurs années (Daniel) (1); or Kostoff (*Genetics*, 14, p. 37, 1929) vient de montrer que le suc des greffons renferme des précipitines vis-à-vis du patron. Il s'agirait donc d'une sorte d'immunité active contre la vieillesse et la mort.

CONCLUSIONS

1° Les propriétés antigéniques du sang d'animal vieux sont différentes de celles de l'animal jeune, et l'on peut obtenir des précipitines sélectives pour l'âge;

2° On peut aussi obtenir chez le lapin des isoprécipitines pour le sérum de vieil animal;

3° Le traitement des jeunes animaux par du sérum sanguin d'animal âgé se traduit, tout d'abord, par une accélération de croissance;

4° L'accélération de croissance est plus marquée avec le sang de l'autre sexe;

5° L'accélération prépubérale de la croissance implique une plus petite taille définitive;

6° Le sexe du donneur de sang peut modifier les caractères sexuels secondaires du receveur;

7° Certaines conditions « psychologiques » comme l'« ins-

(1) *Acad. Sc.* Séance du 14 novembre 1927.

tingent couveur » des poules, peuvent être supprimées par l'injection de sérum homologue;

8° Le gigantisme et le nanisme des donneurs peuvent influencer aussi la courbe de croissance du receveur;

9° L'injection de sérum d'homme sénile ne semble pas être suivie de la transmission de caractères séniles;

10° Le traitement par le sérum de mâle des couples reproducteurs semble influencer le sexe de la descendance dans le sens d'une augmentation du nombre des femelles sans nuire au nombre des petits du sexe mâle;

11° Le traitement par le sérum de femelle des couples reproducteurs semble n'avoir aucune influence sur le sexe des petits;

12° L'injection de sang de papillon de même espèce, faite aux vers à soie, a prolongé la durée moyenne de la vie des papillons issus de ces chenilles traitées.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] CARREL (A.) et EBELING (A.-M.). *Journ. Exper. Med.*, **34**, 1921, p. 503.
- [1'] BAKER (E.) et CARREL (A.). *Id.*, **45**, 1927, p. 305.
- [2] КОТЛОВСКИЙ, Hemolytic action of beef serum in relation to age of cattle. *Proc. Soc. Exp. Biol. A. Med.*, **24**, 1927, p. 849.
- [3] NOYES (H. M.), FOLK (K. Cr.) and BAUMANN (Fr. J.), Lipase action of extracts of tissues of rabbits at different ages. *Journ. Gen. Physiol.*, **9**, 1926, p. 651.
- [4] LIPSCHÜTZ (A.), Das Gesetz der Pubertät. *Deutsch. Med. Wochenschr.*, n° 26, 1927.
- [5] LUMIÈRE (A.) et GRANGE (R.-B.), Toxicité de certains sérums. *C. R. Acad. Sc.*, 12 mars 1928.
- [6] NATTAN-LARRIER et LÉPINE, Etude comparative de l'action d'un sérum précipitant sur les sérums de la mère et du fœtus. *C. R. Soc. Biol.*, **98**, 1928, p. 924.
- [7] BUSQUET (H.), Activation du sérum par injection préalable au jeune mâle du sérum de vieil animal. *C. R. Soc. Biol.*, **97**, 1927, p. 1463.
- [8] FIBIGER (J.) et MÖLLER (P.), Recherches sur l'immunisation contre la formation de métastases dans le cancer expérimental. *Acta. Pathol. et Microbiol. Scandinavica*, **4**, Copenhague 1927, p. 136.
- [9] ZERNOFF (V.), Sur la spécificité de l'immunité passive chez *Galleria mellonella*. *C. R. Soc. Biol.*, **98**, 1928, p. 1501.
- [10] PÉZARD (A.), Le conditionnement physiologique des caractères sexuels secondaires. *Thèse de la Faculté des Sciences de Paris*, 1918. (Edition du *Bulletin biologique de la France et de la Belgique*, 1918).
- [11] TRENTINI (D.), L'influenza del siero de sangue de conigli castrati adulti sullo sviluppo del timo de conigli giovani. *Pathologica*, **18**, 1926, p. 448.

- [12] KRIZENECKY (J.). *Arch. f. Entwicklungsmech*, **107**, 1926, p. 583.
- [13] MÉTALNIKOV, L'infection microbienne et l'immunité chez la Mite des abeilles. *Monographies de l'Institut Pasteur*, Masson éd., in-8°, 1927.
- [14] METCHNIKOFF (E. L.), La mort du papillon du mûrier. Un chapitre de Thanatologie. *Ces Annales*, **29**, 1915, p. 477.
- [15] PICADO (C.), Inmunización contra la vejez. *Repertorio Americano*, **16**, 1928, p. 58. Propiedades antigénicas de la sangre de viejo. *Id.*, p. 172. Efectos diferentes producidos por suero de joven y suero de viejo. *Id.*, p. 302. Suero de macho y suero de hembra. *Id.*, p. 334. Nueva Quimera. *Id.*, **17**, 1928, p. 190. Prolongación de la vida en la Mariposa de la seda. *Id.*, p. 284. Isoprecipitinas experimentales de joven contra viejo. *Id.*, p. 293. Supresion de un « Instinto » por suero de la misma especie. *Id.*, **18**, 1929, p. 43. Tamaño de razas e inyecciones sanguíneas. *Id.*, p. 150. Nanismo y Gigantismo avarios, p. 316. Crecimiento prepuberally tamaño del adulto. *Id.*, **19**, p. 26. Influencia del suero de capón en los pollos. *Id.*, p. 203.

L'IMMUNITÉ PASSIVE ET LA SÉROTHÉRAPIE CHEZ LES INSECTES (CHENILLES DE *GALLERIA MELLONELLA*)

par V. ZERNOFF.

Depuis les célèbres travaux de Metchnikoff sur l'immunité des invertébrés, on a précisé le rôle important de l'immunité cellulaire et de la réaction phagocytaire chez les insectes.

Depuis dix ans, des expériences extrêmement intéressantes de Métalnikov, Cantacuzène, Paillot, Hollande et d'autres savants ont apporté un progrès considérable à la compréhension de l'immunité chez les invertébrés. La nature intime de ce phénomène n'est pas encore connue, mais on sait que le mécanisme par lequel les invertébrés réagissent contre les maladies ne consiste pas uniquement dans une réaction phagocytaire.

La question de l'existence d'anticorps dans le sang des insectes présente un intérêt particulier. Voici ce qu'a écrit Cantacuzène à ce sujet (1) : « L'intérêt très grand, que présente l'étude de l'immunité chez les invertébrés, réside précisément dans le fait que les actions d'anticorps semblent revêtir chez eux un caractère plus imparfait et plus simple que chez les mammifères, et aussi dans cette constatation qu'il règne, entre les différents groupes, une irrégularité et une inégalité vraiment décevantes dans la forme et l'intensité des réactions humorales vis-à-vis d'antigènes donnés. »

Toutes les tentatives qu'on a faites jusqu'à présent pour trouver les anticorps bien connus des vertébrés n'ont pas donné de résultats positifs. On n'a pas pu démontrer la présence de précipitine, de sensibilisatrice, d'alexine et d'autres anticorps. Seule, la bactériolysine a été observée par Métalnikov (2) contre le vibron cholérique et les bacilles dysentériques, et par

(1) *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1923, V. J., p. 110.

(2) S. MÉTALNIKOV, L'infection microbienne et l'immunité chez la mite des abeilles *Galleria Mellonella*. *Monographies de l'Institut Pasteur*, 1927.

Paillol (1) vis-à-vis de plusieurs microbes. D'autre part, Glaser (2) a signalé la présence d'agglutinines dans le sang des sauterelles immunisées. Hollande et Vicher (3) ont démontré l'existence d'anticorps qui sensibilisent et rendent avirulents des microbes très pathogènes pour les chenilles. Les expériences récentes de Chorine (4) ont permis d'observer la formation d'antitoxines diphtériques après l'injection d'anatoxine de Ramon aux *Galleria mellonella*.

Le fait même que l'immunité passive est obtenue chez les chenilles (5) peut être considéré comme une preuve de la présence d'anticorps dans leur sang.

D'autre part, l'inconstance et l'irrégularité de leur formation peuvent faire douter que ces anticorps jouent un rôle dans l'immunité des insectes. D'après Métalnikov, l'immunité acquise chez les chenilles n'est pas spécifique. Peut-être, en comparant ces faits avec le rôle capital de la phagocytose dans l'immunité des invertébrés, pourrait-on expliquer la formation des anticorps comme le résultat d'une augmentation de l'activité leucocytaire après l'introduction d'un corps étranger. Peut-être aussi pourrait-on réunir tous ces anticorps dans un groupe de stimulines.

Pour mieux résoudre ces questions, nous avons entrepris plusieurs séries d'expériences sur l'immunité passive et sur la recherche des anticorps dans le sang des chenilles de *Galleria mellonella*, en employant la technique de M. Métalnikov.

Il faut d'abord noter l'importance de la détermination très précise de la dose minima mortelle de chaque microbe et de chaque souche pour les chenilles; car si on dépasse cette dose, surtout dans l'immunité passive, les chenilles immunisées succombent et on risque de ne pas avoir de résultats nets; d'autre part, les expériences ne seront pas démonstratives si la dose est insuffisante et ne tue pas les chenilles témoins.

On prend une culture du microbe sur gélose âgée de vingt-quatre heures (ou sur un autre milieu, selon le microbe). On en prépare une émulsion dans 1 cent. cube d'eau physiologique

(1) C. R. Acad. Sciences, 169, p. 1122, 172, p. 398.

(2) Psyché. J. of Entomology, Boston, mars, vol. XXV, p. 39.

(3) C. R. de la Soc. de Biol., 1928, p. 1471.

(4) Ces Annales, 43, p. 955.

(5) ZERNOFF C. R. de la Soc. de Biol., 97, p. 1697.

stérile. Partant de cette émulsion épaisse, on fait une série de dilutions en ajoutant une ou plusieurs anses, et même une ou quelques gouttes de l'émulsion initiale pour 1 cent. cube d'eau physiologique.

Pour introduire ces émulsions sous le tégument des chenilles, nous effilons une pipette de verre stérilisée, afin que la partie mince ait à peu près 1 millimètre de diamètre. Nous la courbons à la flamme, et nous marquons les centimètres le long de cette pipette. L'extrémité étant très effilée, on peut injecter de très petites doses, exactement déterminées.

Habituellement, dans le laboratoire de M. Métalnikov, on injecte aux chenilles une dose de 1/80 à 1/100 de centimètre cube d'émulsion microbienne, diluée dans l'eau physiologique.

Pour ne pas léser les organes, on introduit le bout effilé de la pipette sur le côté de la chenille et on injecte la dose voulue. Les chenilles injectées sont placées dans des petits bocaux qui sont portés à l'étuve. Nos expériences ont été faites à la température de 32° à 37°.

La plupart des microbes agissent assez vite sur les chenilles et, au bout de vingt-quatre heures, les chenilles injectées avec une dose suffisante sont mortes. Cependant, il faut noter qu'il existe certains microbes virulents pour les chenilles, qui agissent plus lentement, et il est nécessaire d'attendre deux ou trois jours pour obtenir les résultats.

Le mode de vaccination ne diffère guère de celui de l'inoculation. Nous diluons I ou II gouttes d'émulsion de microbes, chauffée trente minutes à 60° dans 1 cent. cube d'eau physiologique.

Il suffit d'injecter une seule fois ce vaccin, pour obtenir vingt-quatre heures après une immunité très nette.

La technique joue un rôle important dans le prélèvement du sang des chenilles.

Nous mettons des chenilles dans une solution à 2 p. 100 d'acide phénique. Elles sont désinfectées pendant dix ou quinze minutes et ensuite lavées dans de l'eau physiologique. Après les avoir séchées sur un morceau de papier à filtrer stérile, on coupe avec des ciseaux une de leurs pattes en prenant les précautions ordinaires d'asepsie.

On peut ainsi obtenir, dans une pipette effilée, quelques

gouttes de sang stérile. Pour obtenir 1 cent. cube de sang, il faut sacrifier 40 à 50 chenilles.

Pour étudier les frottis colorés, on peut prendre du sang d'une même chenille à plusieurs reprises, sans lui couper la patte.

On sait, d'après Métalnikov, que le sang des chenilles exposé à l'action de l'air forme un pigment noir et devient toxique pour les chenilles. Aussi, en prélevant le sang, nous prenons soin de l'exposer le moins possible à l'oxydation.

Pour démontrer l'immunité passive chez les chenilles de *Galleria mellonella* nous avons fait des expériences avec dif-

TABLEAU I.

NOMBRE de chenilles en expérience	NATURE DE L'INJECTION		NOMBRE de chenilles vivantes	
	1 ^{er} jour	2 ^e jour	3 ^e jour	4 ^e jour
10.	Sang de chenilles immunisées avec l'émulsion chauffée de B. de Danysz.	Dose mortelle de B. de Danysz.	10	10
10.	Sang de chenilles normales:		0	—
10.	Témoins (non injectées).		0	—
8.	Sang de chenilles immunisées avec l'émulsion chauffée de B. subtilis var. <i>Galleria</i> .	Dose mortelle de B. subtilis var. <i>Galleria</i> .		6
8.	Témoins (non injectées).			0

férents microbes : le B. Danysz; le B. paratyphique; le B. *subtilis* var. *Galleria* et le *Coccobacillus acridiorum* de d'Hérelle. En voici quelques exemples.

EXPÉRIENCE I. — 10 chenilles reçoivent 1/80 de cent. cube d'une culture de B. de Danysz chauffée. Le lendemain, le sang de ces chenilles est injecté à 10 chenilles *neuves* et vingt-quatre heures après celles-ci sont inoculées avec une dose mortelle de B. de Danysz. En même temps 10 chenilles témoins et 10 témoins qui ont reçu préalablement le sang normal sont inoculés avec une même dose de B. de Danysz.

Vingt-quatre heures après l'inoculation, toutes les chenilles témoins sont mortes, tandis que les chenilles immunisées passivement restaient vivantes et se développaient en chrysalides et papillons.

EXPÉRIENCE II. — 8 chenilles reçoivent 1/80 de cent. cube d'une culture chauffée de B. *subtilis* var. *Galleria*. Le lendemain, le sang de ces chenilles est injecté à 8 chenilles *neuves*. Vingt-quatre heures après, celles-ci sont

inoculées avec une dose mortelle de *B. subtilis* var. *Galleria*. En même temps 8 chenilles de contrôle reçoivent une dose égale du même microbe. Quarante-huit heures après l'inoculation, toutes les chenilles témoins étaient mortes et, parmi les 8 chenilles immunisées passivement, 2 sont mortes et 6 sont restées vivantes.

Le tableau I montre le résultat de ces expériences.

Nous avons entrepris l'étude de la spécificité de l'immunité passive chez *Galleria mellonella* qui, d'après Métalnikov (1) et Ischimori (2), ne serait pas spécifique.

EXPÉRIENCE III. — 6 chenilles reçoivent une injection du sang de chenilles vaccinées avec une culture chauffée de *B. subtilis* var. *Galleria*. 6 autres

TABLEAU II.

NOMBRE de chenilles ou expérience	NATURE DE L'INJECTION		NOMBRE de chenilles vivantes	
	1 ^{er} jour	2 ^e jour	3 ^e jour	4 ^e jour
6	Sang de chenilles immunisées avec l'émulsion chauffée de <i>B. subtilis</i> var. <i>Galleria</i> .	Dose mortelle de B. de Danysz.	5	5
6	Sang de chenilles immunisées avec l'émulsion chauffée de <i>C. acridiorum</i> .		5	3
6	Témoins (non injectées).		0	—

chenilles reçoivent une injection du sang de chenilles vaccinées avec une culture chauffée de *Coccobacillus acridiorum* de d'Hérelle. Le lendemain, toutes ces chenilles, ainsi que 6 chenilles de contrôle, sont inoculées avec une dose mortelle de B. de Danysz.

Le surlendemain, toutes les chenilles témoins étaient mortes, tandis que de chaque lot de 6 chenilles passivement immunisées, une seulement était morte et 5 étaient vivantes.

Dans le tableau II, nous présentons les résultats de ces expériences.

Le temps qui s'écoule entre la vaccination des chenilles et l'injection de leur sang ne joue pas un rôle essentiel dans l'acquisition de l'immunité. On peut prélever le sang, non

(1) MÉTALNIKOV et ISCHIMORI. *C. R. de l'Ac. des Sciences*, 178, p. 2136.

(2) CHORINE. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 97, p. 1395.

seulement le lendemain de la vaccination, mais aussi après plusieurs jours (cinq, huit, douze jours). Le sang stérile des chenilles vaccinées peut être conservé pendant plusieurs jours dans de petits tubes scellés, sans perdre sa propriété immunisante.

Nous avons pu constater que l'immunité passive se maintient plusieurs jours.

EXPÉRIENCE IV. — 10 chenilles, cinq jours après l'injection de sang de chenilles préalablement vaccinées avec la culture de B. de Danysz chauffée, reçurent, ainsi que 10 chenilles de contrôle, la dose mortelle du même

TABLEAU III.

NOMBRE de chenilles en expérience	NATURE DE L'INJECTION		NOMBRE de chenilles vivantes	
	1 ^{er} jour	6 ^e jour	7 ^e jour	8 ^e jour
10	Sang de chenilles immunisées avec l'émulsion chauffée de B. de Danysz.	Dose mortelle de B. de Danysz.	9	8
10	Témoins (non injectées).		0	

microbe. Vingt-quatre heures après, toutes les chenilles témoins étaient mortes. Des 10 chenilles immunisées, 9 étaient vivantes. Quarante-huit heures après, 8 étaient vivantes (tableau III).

Aghar (1) a pu confirmer les résultats de nos expériences faites en 1927 (2) en étudiant l'immunité passive chez les chenilles *Lithosia complana* L. contre le coccobacille *Pieris lig.* Paillot.

Ayant démontré l'immunité passive chez les chenilles, nous avons cru intéressant d'étudier si la propriété immunisante appartient aux leucocytes ou au plasma des chenilles vaccinées (3).

EXPÉRIENCE V. — Le sang des chenilles préalablement immunisées avec une culture de B. de Danysz chauffée a été centrifugé pour séparer les leuco-

(1) Contribution à l'étude de l'immunité chez les insectes (Thèse Fac. Pharmacie Montpellier, 1928).

(2) C. R. de la Soc. de Biol., 97, 1927, p. 1697.

(3) C. R. de la Soc. de Biol., 99, 1928, p. 315.

cytes du plasma. Le sédiment des leucocytes a été émulsionné séparément dans l'eau physiologique et injecté à 10 chenilles. 10 autres chenilles ont été injectées avec le plasma séparé. Vingt-quatre heures après, toutes ces chenilles, ainsi que les chenilles témoins, ont reçu une dose mortelle du microbe de Danysz.

Le lendemain, parmi les chenilles qui avaient reçu les leucocytes, une était morte. Les chenilles qui avaient reçu le plasma étaient toutes vivantes. Toutes les chenilles témoins étaient mortes.

Il faut noter que les leucocytes des chenilles sont très fragiles; et, en centrifugeant le sang, un certain nombre d'entre eux sont toujours détruits.

Le résultat de cette expérience nous montre que la propriété immunisante appartient aussi bien aux leucocytes qu'au plasma des chenilles vaccinées.

En étudiant le mécanisme de l'immunité chez *Galleria mellonella*, nous avons entrepris une série d'expériences pour rechercher, chez les chenilles, des anticorps analogues à ceux des vertébrés. Tout d'abord, nous avons recherché les substances semblables à l'alexine et aux sensibilisatrices.

Nous savons que chez les mammifères l'alexine est détruite par le chauffage du sang à 56°, tandis que la sensibilisatrice n'est détruite qu'à la température de 60° environ.

Le sérum chauffé au-dessus de 60° devient donc inactif.

EXPÉRIENCE VI. — Nous avons chauffé à 60° pendant une demi-heure le sang prélevé chez des chenilles immunisées contre le bacille de Danysz, puis nous l'avons injecté à 13 chenilles normales. Vingt-quatre heures après, les chenilles injectées, ainsi que les 13 chenilles témoins, reçurent une dose mortelle du même microbe. Deux jours après, toutes les chenilles témoins étaient mortes. Parmi les 13 chenilles injectées avec le sang chauffé, 3 seulement sont mortes.

Dans d'autres expériences, nous avons chauffé le sang à 70°, 75° et 80°. Les résultats obtenus nous montrent que la propriété immunisante du sang chauffé au-dessus de 60° diminue progressivement avec l'augmentation de la température; mais il n'existe pas de limite nette au-dessus de laquelle le sang chauffé perd toutes ses propriétés immunisantes.

Nous n'avons pas dépassé 80°, car, à cette température, le sang est déjà complètement coagulé, ce qui rend l'injection très difficile.

Hollande et Vicher (1) ont démontré que le sang des chenilles de la pierride de chou, immunisées contre *B. pieris liquefaciens* de Paillot, sensibilise ce microbe et le rend inactif.

Nous avons répété ces expériences avec des chenilles de *Galleria mellonella* et nous avons obtenu des résultats analogues.

EXPÉRIENCE VII. — On a prélevé, dans un petit tube, 0 c. c. 5 de sang de chenilles préalablement vaccinées avec une culture chauffée de B. de Danysz. La même quantité de sang des chenilles non immunisées a été prélevée dans un autre tube semblable (2). Puis, dans chaque tube, on a ajouté II gouttes d'émulsion épaisse de culture de B. de Danysz. Les 2 tubes, après avoir été laissés dans la glacière pendant vingt-quatre heures, ont été ensuite centrifugés et lavés à l'eau physiologique.

Après avoir émulsionné séparément les culots de chaque tube, on s'assura, au moyen d'ensemencement sur gélose, que les deux émulsions renfermaient les microbes vivants de Danysz et qu'il n'y avait pas eu contamination au cours de l'expérience.

Deux lots de 10 chenilles furent inoculées avec les émulsions préparées. Le lendemain, toutes les chenilles injectées avec des microbes mis pendant vingt-quatre heures en contact avec le sang des chenilles immunisées sont restées vivantes. Toutes les chenilles de contrôle sont mortes.

En injectant une dose mortelle de B. de Danysz aux chenilles qui avaient survécu, nous avons pu nous assurer qu'elles étaient complètement immunisées contre ce microbe.

On sait que le groupe des microbes paratyphiques et typhiques, parmi lesquels on compte le B. de Danysz, provoquent la formation d'agglutinines chez les mammifères.

Cependant en examinant au microscope le sang de chenilles additionné de microbes de Danysz, après séjour de vingt-quatre heures à la glacière, nous n'avons pu observer aucune différence significative entre l'aspect du sang immunisé et celui du sang normal.

EXPÉRIENCE VIII. — Dans une série de petits tubes, on a prélevé 0 c. c. 5 du sang de chenilles immunisées contre le B. de Danysz. Après les avoir additionnés de I à V gouttes du même microbe (émulsion diluée) pour chaque tube, on les a mis à l'étuve. En les examinant à plusieurs reprises, nous n'avons pu observer aucun phénomène d'agglutination.

Nous avons obtenu des résultats analogues avec le bacille paratyphique.

(1) *C. R. de la Soc. de Biol.*, 11, 1928, p. 1471.

(2) Dans l'expérience de Hollande et Vicher, ils employaient comme contrôle l'eau physiologique, mais nous avons cru intéressant de prendre le sang des chenilles normales pour nous assurer qu'il ne contenait pas d'anti corps.

EXPÉRIENCE IX. — Nous avons examiné sous le microscope, en goutte pendante, un mélange de sang des *Galleria mellonella* vaccinées avec B. de Danysz chauffé et une culture du même microbe.

Nous n'avons pu observer l'agglutination des microbes, même après deux heures.

En faisant des frottis de sang des chenilles, qui avait servi pour la recherche des agglutinines, nous avons pu remarquer une grande différence entre le sang immunisé normal et le sang normal de chenilles, mélangé avec le bacille de Danysz.

Tandis que les frottis préparés avec le sang normal présentaient de grandes quantités de microbes, les préparations faites avec le sang immunisé montraient une diminution, ou même une absence absolue de microbes. C'est ainsi que nous avons constaté les *bactériolysines* de *Galleria mellonella* « *in vitro* »; nous avons cru intéressant de les étudier d'une façon plus précise.

EXPÉRIENCE X. — 0 c. c. 5 de sang de chenilles préalablement vaccinées avec une culture chauffée de Danysz ont été prélevés aseptiquement dans un petit tube stérile, que nous avons mis à l'étuve après y avoir ajouté 1 goutte d'émulsion épaisse du même microbe. Toutes les dix minutes, nous avons pris une petite goutte de ce sang pour préparer des frottis et pour l'examiner sous le microscope. Vingt minutes après, nous avons pu observer une grande diminution des microbes, qui étaient transformés en granules. Trente minutes après, les microbes étaient rares, les granules commençaient à disparaître. Quarante minutes après, absence totale de microbes, très peu de granules.

Cependant, dans la même expérience, faite avec du sang de chenilles normales, nous n'avons pas pu observer la bactériolyse. La quantité de microbes ne diminuait pas, même après deux à trois heures. Le nombre de bacilles transformés en granules était tout à fait insignifiant et même quelquefois nous n'avons pas pu en trouver.

EXPÉRIENCE XI. — Le sang des chenilles préalablement vaccinées, avec une culture chauffée de B. Danysz, a été prélevé à proportion de 0 c. c. 5 dans trois petits tubes stériles.

Le premier tube a été additionné d'une goutte d'émulsion épaisse de *B. galleriæ*.

Le deuxième tube a été additionné d'une goutte d'émulsion épaisse de vibrions de choléra.

Le troisième tube a été additionné d'une goutte d'émulsion épaisse de B. Danysz.

Tous ces tubes ont été portés à l'étuve et on a examiné le sang à plusieurs reprises.

Dans le premier tube, nous n'avons pas pu constater le phénomène de bactériolyse.

Dans le deuxième tube, absence de microbes; granules nombreux.

Dans le troisième tube, la bactériolyse était complète après trente minutes.

EXPÉRIENCE XII. — Le sang de chenilles préalablement vaccinées avec une culture chauffée de bacille de Danysz a été prélevé dans un petit tube stérile. Après l'avoir centrifugé, nous avons séparé dans 2 tubes les leucocytes et le plasma. Les leucocytes ont été émulsionnés. Les 2 tubes ont été additionnés d'une goutte de culture du bacille de Danysz, et ils ont été mis à l'étuve. Trente minutes après, nous avons pu observer l'absence de microbes et plusieurs granules dans les deux tubes.

EXPÉRIENCE XIII. — Le sang de chenilles immunisées contre le bacille de Danysz a été réparti à raison de 0 c. c. 5 dans 3 petits tubes stériles.

Le premier tube a été chauffé trente minutes à 60°.

Le deuxième tube a été chauffé trente minutes à 75°.

Le troisième tube n'a pas été chauffé.

Les 3 tubes ont été additionnés d'une goutte d'émulsion épaisse de bacille de Danysz et mis à l'étuve. Trente minutes après, nous avons pu observer le

TABLEAU IV.

SANG	CULTURES	BACTÉRIOLYSE
Sang de chenilles normales.	Culture de B. de Danysz.	—
Sang de chenilles vaccinées contre B. de Danysz.	Culture de B. de Danysz.	+
Sang de chenilles vaccinées contre B. de Danysz.	Culture de B. de <i>Galleria</i> , n° 1.	—
Sang de chenilles vaccinées contre B. de Danysz.	Culture de V. de Choléra.	+
Sang chauffé à 60° de chenilles vaccinées contre B. de Danysz.	Culture de B. de Danysz.	+
Sang chauffé à 75° de chenilles vaccinées contre B. de Danysz.	Culture de B. de Danysz.	—
Emulsion de leucocytes de chenilles vaccinées contre B. de Danysz	Culture de B. de Danysz.	+
Plasma de leucocytes de chenilles vaccinées contre B. de Danysz.	Culture de B. de Danysz.	+

phénomène de bactériolyse dans le sang du premier et du troisième tube. Les microbes du deuxième tube n'étaient pas modifiés.

Il est intéressant de noter que la bactériolyse était plus marquée dans le sang chauffé trente minutes à 60° que dans celui qui n'avait pas été chauffé.

Dans le tableau IV, nous avons résumé les résultats obtenus au cours de ces essais de bactériolyse *in vitro*.

L'immunité passive se manifeste déjà quelques heures après l'injection du sang des chenilles immunisées (1). En diminuant le laps de temps entre l'injection du sang et l'inoculation de

(1) C. R. Ac. des Sciences, 188, 13 mai 1929, p. 1321.

microbes, nous avons constaté qu'une injection du sang de chenilles vaccinées peut avoir un effet curatif, même si elle est effectuée quelques heures après l'introduction du microbe.

EXPÉRIENCE XIV. — Nous avons inoculé un lot de chenilles avec une dose mortelle du microbe de Danysz. Pendant une heure et demie, les chenilles sont restées à la température du laboratoire.

Après ce temps :

1^o 10 de ces chenilles ont reçu une injection de sang de chenilles préalablement vaccinées;

2^o 10 chenilles reçurent une injection de vaccin du même microbe (culture de bacille de Danysz, chauffée à 60° pendant trente minutes).

3^o 10 chenilles reçurent une injection de sang de chenilles non immunisées;

4^o 10 chenilles témoins ne reçurent rien.

Le lendemain, les chenilles qui avaient reçu une injection de sang de chenilles vaccinées étaient vivantes, tandis que toutes les autres étaient mortes.

Au bout de sept jours, parmi les 10 chenilles qui avaient survécu, 2 étaient mortes; les autres se sont développées normalement, et elles se sont transformées en papillons.

EXPÉRIENCE XV. — Nous avons inoculé un lot de 16 chenilles avec une dose minime mortelle du microbe de Danysz. Quatre heures et demie après, 8 de ces chenilles ont reçu une injection du sang de chenilles vaccinées cinq jours avant. Les 8 autres chenilles restaient comme témoins. *Vingt-quatre heures après*, parmi les chenilles injectées avec du sang immunisé, 7 étaient vivantes;

Trois jours après : 5 étaient vivantes;

Sept jours après : 3 étaient vivantes.

Parmi les témoins :

Vingt-quatre heures après : 3 étaient vivantes;

Trois jours après : 2 étaient vivantes;

Sept jours après : toutes étaient mortes.

Nous avons obtenu des résultats analogues avec la culture de paratyphique B.

Le sang des chenilles immunisées peut être conservé pendant plusieurs jours dans des tubes scellés, sans perdre ses propriétés curatives.

D'après les travaux de Métalnikov (1), on sait qu'une injection d'une substance étrangère provoque chez les chenilles de *Galleria mellonella* une brusque réaction de toutes les cellules du sang. Cette réaction est spécifique selon la substance injectée.

Nous avons entrepris une série d'expériences pour étudier la réaction leucocytaire dans l'immunité passive chez ces chenilles. Dans ce but, toujours suivant la technique de Métalnikov,

(1) Ces *Annales*, 39, 1925, p. 22.

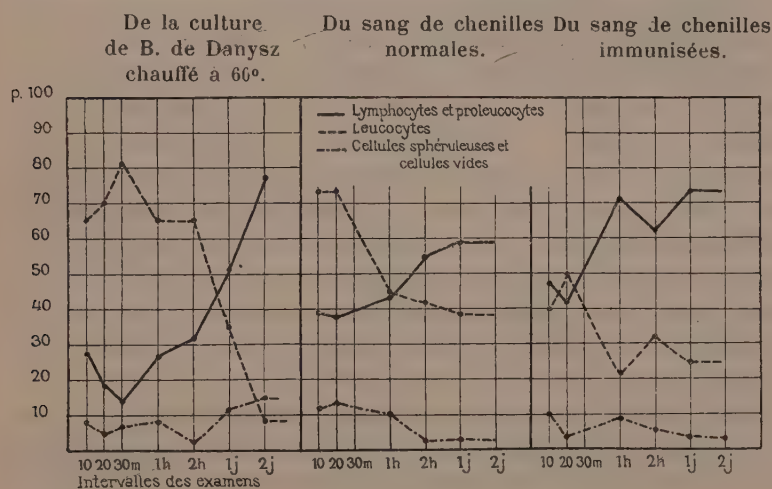
nous avons coloré les frottis du sang par la méthode May-Grünwald-Unna. Nous avons examiné la modification de la formule leucocytaire, après l'immunisation active, après l'immunisation passive, et après l'injection de sang normal.

EXPÉRIENCE XVI. — Nous avons pris 3 lots de 10 chenilles.

1° Les 10 premières ont reçu une injection d'émulsion chauffée de B. de Danysz (immunisation active).

2° 10 autres ont reçu une injection du sang des chenilles préalablement vaccinées avec culture chauffée de B. de Danysz (immunisation passive).

TABLEAU V. — Courbes montrant les variations de la formule leucocytaire chez les chenilles après l'injection :



3° 10 autres ont reçu une injection du sang des chenilles normales.

Après avoir été injectées, les chenilles ont été mises à l'éleve à 32°. Dans le tableau V, nous présentons les résultats des examens successifs de leur sang.

Les résultats de cette expérience nous montrent que l'immunisation active, avec la culture chauffée de B. de Danysz, provoque une brusque augmentation du nombre des leucocytes et une diminution de proleucocytes. Mais vingt-quatre heures, et surtout quarante-huit heures après l'injection, le nombre des proleucocytes augmente considérablement et il représente presque 80 p. 100 de cellules sanguines.

Dans l'immunisation passive, le nombre des proleucocytes

atteint 72 p. 100, déjà une heure après l'injection du sang, et, après ce temps-là, la variation de la formule sanguine est très faible.

EXPÉRIENCE XVII. — Nous avons pris :

1° 10 chenilles préalablement vaccinées (avec culture chauffée de B. de Danysz).

2° 10 chenilles ont reçu préalablement le sang de chenilles immunisées (au moyen de culture chauffée de Danysz).

3° 10 chenilles normales.

Nous avons inoculé toutes ces chenilles avec une dose mortelle de B. de Danysz.

Le tableau VI montre la modification de la formule leucocytaire chez ces chenilles après les injections.

Les résultats des expériences présentés au tableau VI montrent la différence entre la réaction cellulaire après l'inoculation de microbes virulents chez les chenilles immunisées et chez les chenilles normales. Chez les chenilles immunisées, surtout passivement, nous voyons un pourcentage assez élevé de proleucocytes, tandis que chez les chenilles non immunisées, immédiatement après l'inoculation du microbe, on voit une augmentation du nombre des leucocytes et, vingt-quatre heures après, quand les chenilles sont mourantes, une augmentation du nombre des cellules sphéruleuses et des cellules vides (33 p. 100).

Il est évident que ces cellules jouent un rôle important dans les réactions d'immunité chez les chenilles. Le pourcentage de ces cellules monte brusquement aussitôt après l'inoculation chez les chenilles immunisées (chez les chenilles immunisées activement jusqu'à 43 p. 100 et chez les chenilles immunisées passivement jusqu'à 25 p. 100). Leur structure cytologique nous fait penser que les cellules sphéruleuses représentent une sorte de glande mobile, et que leur activité augmente dans la défense contre les microbes.

En résumé, nous pouvons conclure que :

1° L'injection de sang [de chenilles immunisées provoque l'immunité passive contre les différents microbes chez les chenilles de *Galleria mellonella*;

2° Cette immunité n'est pas strictement spécifique;

3° Pour produire l'immunité passive, on peut injecter le sang de chenilles plusieurs jours après la vaccination;

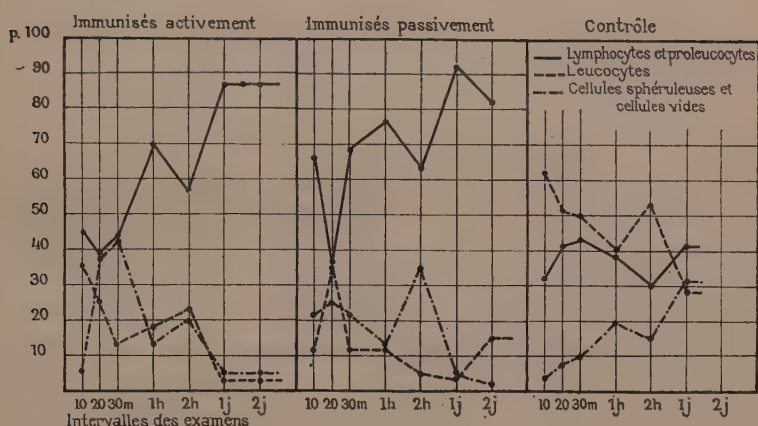
4° L'immunité passive chez *Galleria mellonella* se maintient plusieurs jours;

5° Les leucocytes et le plasma de chenilles vaccinées, employés séparément, confèrent l'immunité passive aussi bien que le sang lui-même;

6° La haute température (80°) ne détruit pas complètement la propriété immunisante de ce sang;

7° Le sang des chenilles immunisées ne renferme pas

TABEAU VI. — Courbes montrant les variations de la formule leucocytaire chez les chenilles injectées avec une dose mortelle de B. de Danysz.



d'alexine ni de sensibilisatrice analogue à celle du sang des vertébrés;

8° Le sang des chenilles immunisées ne contient pas d'agglutines vis-à-vis de B. de Danysz et du B. paratyphique B;

9° Le sang des *Galleria mellonella* immunisées renferme des anticorps qui sensibilisent les microbes et les rendent avirulents;

10° Le sang des chenilles immunisées contient des bactériolysines dont l'action peut se manifester *in vitro*;

11° Les bactériolysines ne sont pas spécifiques;

12° Elles sont thermolabiles et sont détruites entre 60° et 75°;

13° Les leucocytes et le plasma séparément renferment les bactériolysines aussi bien que le sang des chenilles immunisées;

14° L'injection de sang de chenilles vaccinées produit un effet curatif;

15° Cette propriété curative du sang des chenilles vaccinées peut se conserver pendant plusieurs jours *in vitro*;

16° L'immunisation passive provoque une réaction cellulaire spécifique chez les chenilles de *Galleria mellonella*.

Nous adressons nos très vifs remerciements à M. Métalnikov, pour la direction et les conseils si précieux qu'il a bien voulu nous donner au cours de ces recherches.

LES VACCINATIONS ANTIRABIKUES

A L'INSTITUT PASTEUR EN 1929

par JULES VIALA.

Pendant l'année 1929, 542 personnes ont subi le traitement antirabique à l'Institut Pasteur de Paris : aucune mort n'a été signalée.

La statistique s'établit donc ainsi :

Personnes traitées	542
Mort	0
Mortalité p. 100.	0

Le tableau ci-dessous indique les résultats généraux des vaccinations depuis l'origine :

ANNÉE	PERSONNES traitées	MORTS	MORTALITÉ p. 100	ANNÉE	PERSONNES traitées	MORTS	MORTALITÉ p. 100
1886	2.671	25	0,94	1908	524	1	0,19
1887	2.770	14	0,79	1909	467	1	0,21
1888	1.622	9	0,55	1910	401	0	0,00
1889	1.830	7	0,38	1911	341	1	0,29
1890	1.540	5	0,32	1912	395	0	0,00
1891	1.539	4	0,25	1913	330	0	0,00
1892	1.795	4	0,22	1914	373	0	0,00
1893	1.648	6	0,36	1915	654	1	0,15
1894	1.387	7	0,50	1916	1.388	3	0,21
1895	1.520	5	0,38	1917	1.543	4	0,26
1896	1.308	4	0,30	1918	1.803	3	0,16
1897	1.529	6	0,39	1919	1.813	3	0,16
1898	1.465	3	0,20	1920	1.126	6	0,53
1899	1.614	4	0,25	1921	998	1	0,10
1900	1.420	4	0,28	1922	754	0	0,00
1901	1.321	5	0,38	1923	727	0	0,00
1902	1.005	2	0,18	1924	764	1	0,14
1903	628	2	0,32	1925	782	0	0,00
1904	753	3	0,39	1926	634	0	0,00
1905	721	3	0,41	1927	639	0	0,00
1906	772	1	0,13	1928	671	0	0,00
1907	786	3	0,38	1929	542	0	0,00

Les personnes traitées à l'Institut Pasteur sont divisées en trois catégories :

Catégorie A. — La rage de l'animal mordeur a été expérimentalement constatée par le développement de la maladie chez des animaux mordus par lui ou inoculés avec son bulbe.

Catégorie B. — La rage de l'animal mordeur a été constatée par examen vétérinaire.

Catégorie C. — L'animal mordeur est suspect de rage.

Nous donnons ci-après la répartition entre ces catégories des personnes traitées en 1929 :

ANNÉE 1929	MORSURES à la tête			MORSURES aux mains			MORSURES aux membres			TOTAUX		
	Traités	Morts	Mortalité p. 100	Traités	Morts	Mortalité p. 100	Traités	Morts	Mortalité p. 100	Traités	Morts	Mortalité p. 100
Catégorie A. .	8	0	0	29	0	0	12	0	0	49	0	0
Catégorie B. .	11	0	0	85	0	0	135	0	0	231	0	0
Catégorie C. .	41	0	0	138	0	0	83	0	0	262	0	0
	60	0	0	252	0	0	230	0	0	542	0	0

Les personnes se répartissent de la façon suivante, d'après le territoire sur lequel elles ont été mordues :

France.	540
Allemagne.	1
Hongrie.	1

Répartition par départements des 540 personnes traitées mordues en France.

Aisne.	5	Cantal	2
Allier	2	Charente-Inférieure	2
Ardennes	1	Cher	6
Aube	1	Corrèze	2
Calvados	3	Côte-d'Or	6

Côtes-du-Nord	5	Nièvre	2
Creuse	6	Nord	1
Doubs	6	Oise	3
Eure	7	Orne	1
Eure-et-Loir	4	Pas-de-Calais	2
Finistère	5	Puy-de-Dôme	8
Garonne (Haute-)	6	Pyrénées (Hautes-)	1
Hérault	1	Rhône (Bouches-du-)	3
Ile-et-Vilaine	15	Saône-et-Loire	3
Indre	5	Sarthe	3
Indre-et-Loire	2	Savoie (Haute-)	1
Jura	1	Seine	224
Loir-et-Cher	2	Seine-et-Marne	9
Loire (Haute-)	1	Seine-et-Oise	65
Loire-Inférieure	17	Seine-Inférieure	25
Loiret	2	Sèvres (Deux-)	7
Lot	1	Somme	4
Maine-et-Loire	2	Tarn-et-Garonne	4
Manche	8	Territoire de Belfort	3
Marne	1	Vaucluse	
Marne (Haute-)	20	Vienne	3
Mayenne	1	Vienne (Haute-)	7
Meuse	2	Vosges	1
Morbihan	9	Yonne	1
Moselle	1		

Depuis 1911, l'Institut Pasteur a adopté la méthode de conservation en glycérine des moelles atténuées, introduite dans la pratique par A. Calmette.

On se sert de pots-bans d'une contenance de 50 cent. cubes.

Dans chacun, on verse 25 cent. cubes de glycérine à 30° B^e, neutre.

On stérilise à 120°, pendant vingt minutes.

On laisse refroidir et on introduit dans chaque pot-ban quelques fragments de moelles préalablement desséchées dans un flacon de potasse, d'après la méthode initiale de Pasteur.

Dans chaque flacon contenant la glycérine on met plusieurs fragments de moelle dont la longueur totale peut atteindre 5 centimètres.

On conserve ces flacons à la glacière aux environs de + 4°.

Pour éviter l'infection de la moelle chez les lapins paralysés et agonisants, on place ces derniers à même dans la glace.

Sitôt qu'ils sont morts, on extrait la moelle par la méthode

d'Oshida, au moyen d'un mandrin métallique nickelé stérile (1).

On n'utilise, pour la vaccination des personnes mordues, que des moelles ayant séjourné moins de vingt jours en glycérine, l'expérience ayant montré que le degré d'atténuation de chaque moelle n'est pas sensiblement modifié pendant les vingt premiers jours.

Le virus fixe de passage actuellement utilisé est le même que celui dont on s'est toujours servi depuis la création du service de vaccinations antirabiques, d'abord rue d'Ulm, et ensuite (à partir de 1888) à l'Institut Pasteur.

A la date du 1^{er} mars 1927, il portait le n° 1314.

Il convient de signaler que, depuis le 19 août 1911, les inoculations de passage du virus fixe sont toujours effectuées, non plus avec le bulbe frais de lapin rabique, mais avec le bulbe conservé depuis au moins quarante-huit heures en glycérine à la glacière.

Depuis que cette technique a été adoptée, nous n'avons jamais constaté de modifications dans les délais d'incubation de la maladie après inoculation sous la dure-mère, et *aucun incident* (paralysie ou autre) *n'a été observé chez les mordus qui ont suivi le traitement.*

Nous reproduisons ci-après le schéma des traitements suivis par les mordus, suivant la gravité de leurs morsures.

Injectons antirabiques.

1 ^{er} jour	Moelle de 5 jours	
2 ^e —	— 5 —	3 cent. cubes
3 ^e —	— 4 —	
4 ^e —	— 4 —	
5 ^e —	— 3 —	
6 ^e —	— 3 —	
7 ^e —	— 4 —	
8 ^e —	— 3 —	
9 ^e —	— 2 —	
10 ^e —	— 4 —	
11 ^e —	— 3 —	
12 ^e —	— 2 —	Morsures légères.
13 ^e —	— 3 —	
14 ^e —	— 3 —	
15 ^e —	— 2 —	

(1) Ces mandrins (modèle de Jules Viala) sont construits par la fabrique d'instruments de chirurgie Collin, rue de l'École-de-Médecine, à Paris.

16 ^e	jour	Moelle de 4 jours	} 3 cent. cubes
17 ^e	—	— 3 —	
18 ^e	—	— 2 —	
			<i>Morsures multiples.</i>
19 ^e	jour	Moelle de 3 jours	} 3 cent. cubes
20 ^e	—	— 3 —	
21 ^e	—	— 2 —	
			<i>Morsures graves.</i>
22 ^e	jour	Moelle de 3 jours	} 3 cent. cubes
23 ^e	—	— 3 —	
24 ^e	—	— 2 —	
25 ^e	—	— 2 —	
			<i>Morsures à la tête.</i>

INFORMATION

I^{ER} CONGRÈS INTERNATIONAL DE MICROBIOLOGIE

Paris, 20-25 Juillet 1930

Président d'honneur : M. le Docteur ROUX.

Président : M. le Professeur BORDET.

Le premier Congrès International de Microbiologie, organisé par la Société Internationale de Microbiologie, se tiendra à Paris, l'Institut Pasteur et au Palais des Congrès, du 20 au 25 juillet 1930.

PROGRAMME

I. — RAPPORTS

Les rapporteurs dont les noms sont en italique ont déjà accepté; les autres n'ont pas encore fait connaître leur acceptation.

PREMIÈRE SECTION : MICROBIOLOGIE MÉDICALE ET VÉTÉRINAIRE

1. Variabilité microbienne; phénomènes lytiques. Rapporteurs MM. *J. Bordet, d'Hérelle, Ledingham et Arkwright, Max Neisser.*

2. Scarlatine (étiologie, prophylaxie, thérapeutique). Rapporteurs MM. *Cantacuzène, Debré, Dick, Dochez, Friedemann, Teissier, Zlatogoroff, A. Wadsworth.*

3. Éléments filtrables des virus neurotropes (épidémiologie, thérapeutique). Rapporteurs : MM. *Doerr, Rivers, Levaditi, Netter.*

4. Fièvre ondulante et avortement épizootique. Rapporteurs MM. *Kling, Rinjard, G. Vernoni.*

5. Pathogénie du choléra. Rapporteurs : MM. *KITASHIMA, Sanarelli.*

6. Grippe (étiologie). Rapporteur : M. *R. Pfeiffer.*

DEUXIÈME SECTION : SÉROLOGIE ET IMMUNITÉ

1. Lipoides dans l'immunité. Rapporteurs : MM. *Belfanti, Sachs*.
2. Culture des tissus. Rapporteurs : MM. *Canti, Carrel, Fischer, Urburg*.
3. Groupes sanguins. Rapporteurs : MM. *Hirszfeld, Landsteiner, ttès*.

TROISIÈME SECTION : BOTANIQUE ET PARASITOLOGIE

1. Immunité chez les plantes. Rapporteur : M. *Carbone*.
2. Spirochétose ictérohémorragique (Maladie de Weil) et Spirochè-
es d'origine hydrique. Rapporteurs : MM. *INADA, Uhlenhuth*.
3. Spirochètoses sanguines (tiques et poux). Rapporteur : M. *Ch.
colle*.
4. Bartonelloses et infections sanguines des animaux splénecto-
sés. Rapporteur : M. *Martin Mayer*.

— CONFÉRENCES ET DÉMONSTRATIONS AU LABORATOIRE

Conférence sur un sujet d'épidémiologie : M. S. *FLEXNER*.

Conférence : Analyse microbiologique du sol : M. *WINOGRADSKY*.

Conférence : Syphilis expérimentale et immunité : M. *Kolle*.

Tuberculose et vaccination antituberculeuse : M. *Calmette* et ses
laborateurs.

Floculation des sérums thérapeutiques. Vaccination anti-diphté-
que : MM. *Ramon, Park*

Démonstrations de bactériologie : MM. *G. Volpino, Wright*.

Bactériologie médicale : MM. *H. Vincent* (Collège de France),
acquépée (Val-de-Grâce).

Conférences et démonstrations de bactériologie médicale : M. *Le-
ierre* et ses collaborateurs (Faculté de Médecine).

Biologie : M. *Fauré-Frémiet* (Collège de France).

Culture des tissus et des tumeurs : MM. *Borrel, Canti, Fisher*.

Fièvre jaune : MM. *Aragao, HINDLE, HUDSON, Marchoux, Pettit*.

Culture des protozoaires et physiologie des protozoaires en culture pure : M. *Mesnil* et ses collaborateurs.

Bilharziose, culture de trypanosomes, d'amibes et d'helminthes
Mycologie : M. *Brumpt* et ses collaborateurs (Faculté de Médecine).

Immunité et allergie dans les helminthiases : M. *Fülleborn*.

III. — COMMISSIONS

Une Commission s'occupera spécialement des questions de nomenclature; une autre de la rédaction définitive des statuts de Société Internationale de Microbiologie.

IV. — COMMUNICATIONS

Les congressistes pourront présenter des communications aux conditions suivantes :

- a) Elles devront se rapporter à l'un des sujets des rapports.
- b) Elles seront rédigées dans l'une des cinq langues suivantes : allemand, anglais, espagnol, français, italien.
- c) Elles ne comprendront aucun historique, mais seulement un résumé des recherches personnelles de l'auteur.
- d) Un même congressiste ne pourra présenter plus de deux communications. Des communications collectives pourront être faites si l'un des auteurs est présent.
- e) Chaque auteur de communication devra adresser au secrétariat du Congrès (1) avant le 1^{er} juin 1930 le *titre* et un résumé de sa communication. Ce résumé, d'une étendue de 10 à 15 lignes, est destiné à la Presse.
- f) Le temps fixé pour chaque communication sera de 10 minutes.
- g) Les auteurs devront mentionner si les communications seront accompagnées de projections ou de films cinématographiques. Les clichés de projection devront être de format $8,5 \times 10$ et le film de la dimension « standard » (dans le cas contraire, s'entendre directement avec le secrétariat).

V. — HORAIRE

Dimanche 20 juillet, le secrétariat du Congrès sera ouvert au Palais des Congrès (Palais des Expositions, Porte de Versailles, Paris), de 14 heures à 18 heures. MM. les Congressistes sont instamment priés d'

(1) M. R. DUJARRIC DE LA RIVIÈRE, Institut Pasteur, 26, rue Dutot, Paris (XV^e).

passer pour retirer les papiers qui les concernent (particulièrement un programme du Congrès portant la liste complète des rapports, conférences, démonstrations, communications, visites, etc.).

Lundi, à 9 heures : Ouverture du Congrès. Allocutions. Visite au musée de Pasteur.

Lundi, à 14 heures : Rapports et communications.

Mardi, mercredi, jeudi et vendredi : 1^o de 9 heures à 12 heures : démonstrations pratiques au Laboratoire (Institut Pasteur, Faculté de Médecine, Faculté de Pharmacie, Faculté des Sciences, École d'Alfort, Collège de France, École d'Anthropologie); 2^o de 14 heures à 19 heures : Rapports, Communications, Discussion.

Samedi : Excursion.

Un programme spécial (visite des musées, des monuments de Paris, etc.) pour les dames des congressistes sera organisé.

VI. — INSCRIPTIONS

Les personnes qui désirent prendre part au Congrès devront, quelle que soit leur nationalité, adresser directement leur demande et le montant de leur cotisation (100 fr. français) au trésorier du Congrès : **Georges Masson, éditeur, 120, boulevard Saint-Germain, Paris (VI^e).** Compte postal n^o 599; télégr. : Gemas-Paris-25.

Les demandes d'inscription seront reçues jusqu'au 15 juin 1930.

Il n'est pas nécessaire, pour s'inscrire, de faire partie de la **Société internationale de Microbiologie.**

VII. — VOYAGE ET LOGEMENT

L'Agence Thos, Cook et Son, en coopération avec la **Compagnie internationale des Wagons-Lits, 2, place de la Madeleine, à Paris** (ainsi que ses représentants en tous pays), se charge de fournir tous renseignements et devis concernant le déplacement à Paris des congressistes et de leur fournir les billets de parcours, de leur réserver des chambres dans le genre d'hôtel choisi, etc.

La Compagnie Nord-Atlantique a bien voulu accorder une remise de 20 p. 100 sur le prix de traversée pour toutes ses lignes de navigation. Les chemins de fer français ont accordé une réduction de 50 p. 100 aux congressistes. S'adresser aux bureaux de l'Agence Cook.

Une excursion à Versailles et à la Malmaison ou la Vallée de Chevreuse est organisée; le prix en est de 90 francs tous frais compris. Un banquet par souscription, au prix de 65 francs, aura lieu le 25 juillet 1930. MM. les Congressistes qui désirent assister soit à l'excursion soit au banquet, soit aux deux, peuvent adresser les sommes correspondantes au Trésorier en même temps que le prix de leur inscription au Congrès. Les dames sont admises. L'inscription au banquet ou à l'excursion est facultative.

Le Secrétariat du Palais des Congrès ne fonctionnera qu'à partir du 20 juillet 1930. Jusqu'à cette date, s'adresser soit au Secrétariat général, soit directement (en s'inscrivant) à M. GEORGES MASSON, Trésorier.

Secrétariat général. — Pour les pays de langues latine et slave : R. DUJARRIC DE LA RIVIÈRE, Institut Pasteur, Paris (XV^e); pour les pays de langue allemande : Professeur GILDEMEISTER, Reichgesundheitsamte, Berlin (Dahlem); pour les pays de langue anglaise : D^r HARRY PLOTZ, Institut Pasteur, Paris.

Pays ayant déjà adhéré à la Société Internationale de Microbiologie et où existent des Comités nationaux : Allemagne, Amérique du Nord, Angleterre, Argentine, Autriche, Belgique, Brésil, Bulgarie, Danemark, Espagne, France, Grèce, Hollande, Hongrie, Italie, Japon, Pologne, Norvège, Portugal, Roumanie, Suède, Suisse, Tchéco-Slovaquie, U. R. S. S., Yougo-Slavie.

EXPOSITION

Une exposition concernant tous objets se rapportant au Laboratoire (instruments, livres, optique, matières colorantes, sérums, etc.) est organisée, à l'occasion du Congrès, sous le patronage du Comité français des Expositions et sous la présidence de M. Président, M. JEAN FAURE. Elle se tiendra au Palais des Congrès (Palais des Expositions, Porte de Versailles, Paris), du 20 au 26 juillet 1930. Pour tout ce qui concerne cette exposition s'adresser au COMITÉ FRANÇAIS DES EXPOSITIONS, 22, avenue Emmanuel-III, Paris (8^e). Téléph. : Élysées 49-83. Télégr. : Comitexpo-Paris. Compte de chèques postaux n° 222.4.

Le Gérant : G. MASSON.